UNIVERSITÉ DE STRASBOURG FACULTÉ DE PHARMACIE

ANNÉE 1939—40 No 232

Contribution à l'Etude de l'Hydrolyse du Lactose et de son dosage en présence de Glucose

Thèse

présentée et soutenue publiquement le 8 Juillet 1939
à la Faculté de Pharmacie de Strasbourg
pour obtenir le grade de Docteur de l'Université
(Mention Pharmacie)
par

Aziz BARSOUM, Pharmacien

Examinateurs de la Thèse:

M. P. CORDIER, Professeur, Président
M. Y. VOLMAR, Professeur } Juges
M. Ch. LAPP, Professeur }

Strasbourg
Imprimerie de la Bourse — 12, Rue Klein
1939

UNIVERSITÉ DE STRASBOURG FACULTÉ DE PHARMACIE

8-39
ANNÉE 1939—40 No 232

Contribution à l'Etude de l'Hydrolyse du Lactose et de son dosage en présence de Glucose

Thèse

présentée et soutenue publiquement le 8 Juillet 1939
à la Faculté de Pharmacie de Strasbourg
pour obtenir le grade de Docteur de l'Université
(Mention Pharmacie)

par

Aziz BARSOUM, Pharmacien

Examinateurs de la Thèse:

M. P. CORDIER, Professeur, Président
M. Y. VOLMAR, Professeur } Juges
M. Ch. LAPP, Professeur }

Strasbourg
Imprimerie de la Bourse — 12, Rue Klein
1939

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

UNIVERSITÉ DE STRASBOURG

FACULTÉ DE PHARMACIE

ADMINISTRATION

MM. A. SARTORY, *Doyen*, C. ✻, I. ✿, ❁
VOLMAR, *Assesseur*, I. ✿
PIPERAUD, *Secrétaire*, I. ✿, ❀, ⚜

DOYEN HONORAIRE

M. JADIN, O. ✻, I. ✿, ❁

PROFESSEURS

MM.	A. SARTORY, C. ✻, I. ✿, C. ❁	Bactériologie
	LAVIALLE, ✻, I. ✿, ❁	Botanique
	VOLMAR, I. ✿	Chimie organique
	GUILLAUME, ✻, ⚜, I. ✿, ❁	Pharmacie galénique
	LAPP, I. ✿	Chimie analytique
	CORDIER, ✿	Pharmacie chimique
	R. SARTORY, ✿, ❁	Matière médicale

MAITRE DE CONFERENCE

M. DUQUENOIS ..... Toxicologie

PROFESSEUR HONORAIRE

M. JADIN, O. ✻, I. ✿, ❁.

COURS COMPLEMENTAIRES

MM.	A. SARTORY	Hygiène
	LAVIALLE	Hydrologie
	VOLMAR	Chimie minérale
	GUILLAUME	Zoologie
	LAPP	Physique
	EISENMANN	Législation et Déontologie
	CORDIER	Chimie biologique
	R. SARTORY	Cryptogamie

CHEFS DE TRAVAUX PRATIQUES

MM.	COLLARD, I. ✿, ⚜	Chimie pharmaceutique
	Mme LALLEMAND, ✿	Chimie et Physique
	MEYER, ✿	Bactériologie et Parasitologie
	JÆGER	Histoire naturelle

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548026_0079

A mon Cher Maître et Président de Thèse

Monsieur P. CORDIER,

Professeur de Pharmacie Chimique

à la Faculté de Pharmacie de Strasbourg.

Hommage de respectueuse admiration
et vive reconnaissance.

A Mes Juges

Monsieur Y. VOLMAR,

Professeur de Chimie Générale
à la Faculté de Pharmacie de Strasbourg.

Monsieur Ch. LAPP,

Professeur de Chimie Analytique et Toxicologie
à la Faculté de Pharmacie de Strasbourg.

Hommage de profonde gratitude.

A Monsieur Michel SCHACRA,

Gérant de la Pharmacie Mazboum, Foad du Caire.

A Mon Frère Dr BOTROS,

Gérant de la Pharmacie Khazan d'Assiut.

En souvenir de mon stage.

A Mon Frère SAMI,

Médecin de l'Hôpital Américain,

je dédie ce travail.

A Ma Mère

A Mon Père

En témoignage de ma grande affection et en gage de ma sincère reconnaissance,

je dédie ce travail.

A Mes Sœurs

A Mes Frères

En témoignage de vive affection.

A Mes Amis.

INTRODUCTION

Il est un fait bien connu que l'hydrolyse du lactose est beaucoup plus lente que celle du saccharose, et maints auteurs ont étudié les meilleures conditions de transformation du lactose en ses constituants, glucose et galactose, et précisé les modalités de cette réaction d'interversion.

Nous savons que le pouvoir réducteur du lactose ainsi que son pouvoir rotatoire constituent deux propriétés fondamentales susceptibles d'être utilisées en vue du dosage de ce sucre ; grâce à la connaissance de ces propriétés on a depuis longtemps imaginé un procédé de dosage classique pour le mélange de deux sucres, tels que le lactose et le glucose. Cette méthode, basée sur l'examen polarimétrique et sur le pouvoir réducteur du mélange des deux sucres, est souvent employée et rend de précieux services en analyse.

Cependant cette technique ne peut être utilisée que pour des solutions de concentrations supérieures à 10 %, étant donné les faibles déviations lues au polarimètre pour des taux inférieurs ; et nous avons vérifié que les résultats obtenus sur des solutions diluées de lactose et de glucose étaient le plus souvent entachés d'erreurs notables.

Or, il existe un cas très intéressant en Chimie Biologique qui est précisément celui de la recherche et du dosage de ces deux sucres, lactose et glucose,

dont la coexistance peut avoir lieu dans l'urine, et particulièrement dans celle des femmes enceintes; l'emploi de réactif tel que la phénylhydrazine permet, par la formation aisée des osazones respectives, d'affirmer ou d'infirmer la présence des deux sucres; il nous a semblé qu'il serait peut-être de quelque intérêt d'étudier les modalités du dosage de ces deux sucres dans des solutions de faible concentration, se rapprochant de celles que l'on trouve habituellement dans les cas physiologiques ou pathologiques courants et pour lesquels, comme nous l'avons déjà souligné, il n'est pas possible d'utiliser l'examen polarimétrique, trop peu sensible dans ces cas particuliers.

Nous nous sommes donc proposé, sous la direction de notre Maître M. le Professeur P. CORDIER, d'étudier d'une façon systématique l'hydrolyse du lactose et d'examiner également cette réaction en présence de glucose, ou de glucose et de galactose, et d'essayer de tirer des conclusions pratiques concernant l'application des résultats de cette étude à celle de l'analyse quantitative du mélange de lactose et de glucose; les déterminations successives des pouvoirs réducteurs des solutions, avant et après l'hydrolyse, nous permettant d'établir deux équations dont nous pouvons tirer les concentrations du lactose et du glucose.

Ce sont les résultats de cette étude que nous présentons comme thèse.

Nous avons divisé notre travail en trois parties:

Première partie: Rappel des données essentielles concernant le lactose et plus particulièrement son hydrolyse.

Deuxième partie: Etude de l'hydrolyse du lactose.

Troisième partie: Application au dosage du lactose en présence de glucose.

Avant d'exposer les recherches que nous avons faites et les résultats auxquels nous sommes arrivé, nous tenons à remercier le Professeur P. CORDIER de l'honneur qu'il nous a fait en acceptant de diriger nos études. Pendant tout notre séjour dans son laboratoire, notre Maître n'a cessé de nous témoigner la plus grande bienveillance et les conseils les plus éclairés. Nous nous permettons ici de lui présenter l'expression de notre vive admiration et de notre entier dévouement. Nous ne cesserons de conserver avec gratitude le souvenir de la haute autorité de son enseignement autant que de la bienveillante sympathie dont il nous a entouré.

Au moment de quitter la Faculté, nous nous faisons un devoir d'exprimer nos remerciements à tous nos Maîtres pour le précieux enseignement qu'ils nous ont donné, et en particulier à M. Y. VOLMAR et M. Ch. LAPP, professeurs à la Faculté de Pharmacie, pour l'honneur qu'ils nous ont fait de participer à notre Jury de thèse.

Nous avons trouvé une aide précieuse et amicale auprès de M. SCHREIBER, assistant dans le laboratoire de Pharmacie Chimique; qu'il reçoive l'expression de notre reconnaissance bien sincère.

PREMIERE PARTIE

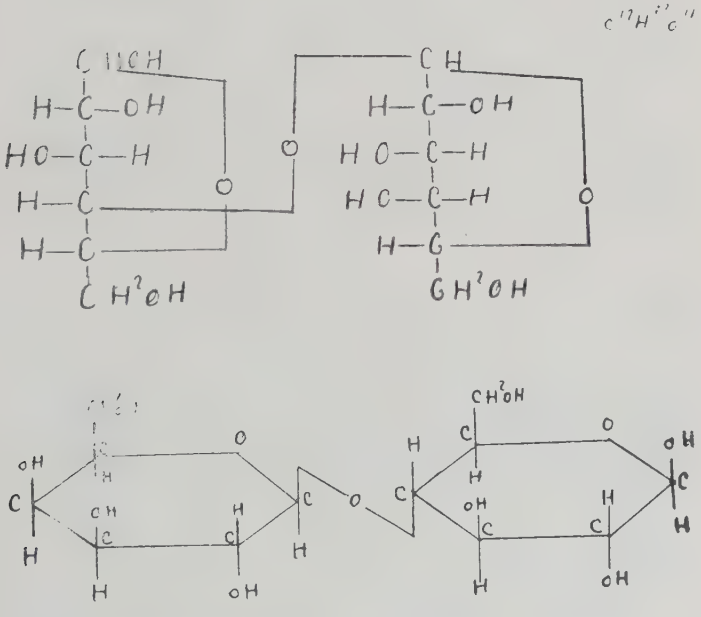
RAPPEL DES DONNEES ESSENTIELLES CONCERNANT LE LACTOSE ET PLUS PARTICULIEREMENT SON HYDROLYSE

Le lactose, sucre de lait ou lactine des anciens auteurs, est connu depuis longtemps et était déjà employé au dix-septième siècle, confondu dès le début de son étude avec le galactose qui constitue, comme on le sait, un de ses produits de dédoublement; il fut reconnu différent de celui-ci par SCHEIBLER qui lui donna le nom de lactobiose, qui indique immédiatement son isomérie avec les autres sucres hydrolysables en C^{12}.

La véritable nature résulte des travaux de PASTEUR, FUDAKOWSKI, BOUCHARDAT et autres qui ont précisé que le lactose se dédouble sous l'influence des acides étendus et bouillants en glucose et un de ses isomères, le galactose, découvert en 1856 par PASTEUR et entrevu auparavant par VOGEL et BOUCHARDAT.

D'après la nouvelle nomenclature, le lactose appartient au groupe des holosides constitué par l'union du d-galactose et du d-glucose; les premières

formules qui ont été données de ce corps, et en particulier par FISCHER (1), ont été écrites en tenant compte, entre autres propriétés, du pouvoir réducteur de ce sucre, le groupe aldéhydique réducteur appartenant à un reste de glucose ; depuis les travaux de HAWORTH et de ses collaborateurs, la formule admise actuellement répond au schéma suivant qui permet de comprendre l'union du galactose et du glucose envisagés sous les formes pyraniques correspondantes :



Galactopyranose Glucopyranose

On sait que cette interprétation de la structure des sucres et en particulier du lactose n'est pas nouvelle, mais alors qu'on envisageait que le cycle oxydique était pentagonal, actuellement dans la plupart

des cas (sauf pour le lévulose entrant dans la constitution du saccharose) on envisage une structure hexagonale : c'est ce qu'on appelle un cycle pyranique par opposition au cycle pyranique pentagonal ; dans ces conditions le lactose est un holoside, hexobiose, constitué par l'union du galactopyranose et du glucopyranose.

Le lactose se rencontre dans le lait des mammifères. DENIGÈS (2) a montré que les sucres que l'on retire du lait de femme ou des animaux domestiques sont rigoureusement identiques entre eux. Le lait renferme d'ailleurs à côté du lactose de petites quantités d'autres sucres étudiés par RITHAUSEN (3), par SCHMOEGER (4), LANDWEHR (5) et par DENIGÈS (6) ; cette question a été étudiée également par POLONOWSKI et LESPAGNOL (7) qui ont trouvé que le lait de femme contient un autre sucre : l'allolactose.

Le lactose se rencontre également dans l'urine des femmes enceintes et après l'accouchement.

Au contraire dans le règne végétal sa présence n'a été signalée que dans certains cas particuliers. BOUCHARDAT en a trouvé dans le suc de SAPOTILLIER (9) (Achras Sapota)

PREPARATION :

On part du petit lait que l'on porte à l'ébullition pour coaguler les matières albuminoïdes, la liqueur filtrée, concentrée, abandonne par refroidissement le lactose brut. Celui-ci est purifié par dissolution dans l'eau en présence de noir animal, et on effectue une nouvelle cristallisation, on concentre dans ce but à une température de 60° dans le vide.

SYNTHESE:

PICTET et VOGEL (10) ont obtenu un produit identique au lactose en chauffant à 175° sous la pression de 15 mm. un mélange de β-glucose et de β-galactose en présence de chlorure de zinc.

PROPRIETES PHYSIQUES:

Le lactose est un corps de saveur faiblement sucrée qui se présente en cristaux monocliniques contenant une molécule d'eau de cristallisation. Il fond à 201°. Il se dissout dans 6 parties d'eau froide et dans 2,57 parties d'eau bouillante.

Son poids moléculaire a été déterminé par cryoscopie par TOLLENS (11) et par DENIGES (6).

Comme la plupart des sucres réducteurs, le lactose se présente sous plusieurs formes tautomères a pouvoir rotatoire distinct; ces modifications ont été étudiées par un grand nombre de chimistes et en particulier par TASMET.

Le pouvoir rotatoire stable du lactose est $[\alpha]D$ — 52,5 à 20° (SCHMOEGER) pour le produit hydrate; $[\alpha]D$ — 55,3 pour le sucre anhydre. Ces valeurs étant valables lorsque la concentration ne dépasse pas 36 % et décroissant légèrement quand la température s'élève. Le pouvoir rotatoire diminue légèrement quand la température augmente, la variation est égale à 0,055 t pour le sucre hydraté, t représentant le nombre de degrés au-dessus ou au-dessous de 20°.

D'apres HESSE, le pouvoir rotatoire varie peu avec la concentration, et passe par un minimum pour une concentration voisine de 50 p. 1000 de sucre hydraté et serait représenté par la formule:

$$[\alpha]D = + 54,54 - 0,557\ p + 0,05475\ p^2.$$

p représentant le poids de sucre hydraté dissout dans 100 cc. d'eau pour des concentrations comprises entre 2 et 12 %.

D'après DENIGÈS et BONNANS, on aurait $[\alpha]D = + 52,53 + 0,055 (20 - t)$ pour toutes les températures. Le pouvoir rotatoire du lactose anhydre est naturellemnt supérieur aux nombres précédents: ERDMANN et TANRET donnent pour ce corps le même chiffre $[\alpha]D = + 56$; DENIGÈS et BONNANS donnent 54,7 pour la température de 15° à 18°. Le lactose possède la multirotation et donne en solution aqueuse initialement $[\alpha]D = + 89,4$, valeur qui décroît rapidement jusqu'à la valeur d'équilibre $[\alpha]D = + 55,5$ (pour le lactose anhydre). UHRECH (12) a reconnu le premier que la valeur d'équilibre est atteinte rapidement en présence de traces d'ammoniaque, propriété qui est, comme on le sait, utilisée dans la pratique pour les autres sucres et en particulier pour le glucose. Nous savons que cette modification du pouvoir rotatoire tend à une transformation tautomérique de la molécule en solution aqueuse. Il existe, en effet, une forme α à haut pouvoir rotatoire (+ 89) et une forme β à faible pouvoir rotatoire ($[\alpha]D = + 39,5$), l'une et l'autre donnant en solution un pouvoir rotatoire limite représentant un équilibre entre les deux structures tautomériques de valeur $[\alpha]D = + 55,5$ pour le sucre anhydre. Le lactose hydraté du commerce correspond à la forme α, il fond à 222. La forme β fond à 252,2°, elle est obtenue par évaporation d'une solution à une température supérieure à 93,5°.

PROPRIETES CHIMIQUES:

Le lactose ne perd que difficilement son eau de cristallisation et ne devient anhydre que s'il est main-

tenu longtemps à 125° ; à 170-180°, il commence à caraméliser. Chauffé pendant 10 à 12 heures vers 185° sous une pression de 4 à 6 mm., il se transforme en lactosane $C^{12}H^{20}O^{10}$ anhydride qui sous l'action de l'eau chaude régénère le lactose. Chauffé en présence de chlorure de zinc il se polymérise.

Hydrogéné par l'amalgame de sodium (13) ou par l'hydrogène sous pression en présence de nickel (14), le lactose donne naissance à du dulcitol et du mannitol ; en opérant avec un nickel peu actif, SENDERENS a pu obtenir l'alcool correspondant au lactose : le lactositol $C^{12}H^{21}O^{11}—OH^2$ (F. 78), corps qui ne réduit pas la liqueur de FEHLING.

Les acides minéraux dilués scindent le lactose en une molécule de d-galactose et une molécule de d-glucose, cette hydrolyse est plus lente que celle du saccharose, nous en étudierons les modalités plus loin. Les acides sulfuriques et chlorhydriques concentrés dégradent profondément le lactose avec formation d'acide formique, d'acide levulique et de matières brunes.

On a préparé des éthers nitriques et acétiques et acétohalogénés, corps qui se sont montrés très intéressants pour les synthèses des tri et tétraholosides. Traité par le sulfate de méthyle en présence de soude ou par l'iodure de méthyle et l'oxyde d'argent, le lactose donne l'éther méthylique osidique correspondant (15).

Action des bases:

Les alcalis attaquent le lactose de la même manière que le glucose en donnant naissance à de l'acide lactique, acides acétique et formique et du méthylglyoxal (16-17). KILIANI a obtenu avec la chaux

de l'acide oxalique et des acides isosaccharinique, métasaccharinique et parasaccharinique (18-19). On peut obtenir les lactosates métalliques (sodium, potassium, chaux et baryte).

Le lactose empêche la précipitation des sels de fer et de cuivre par les alcalis.

Oxydation. — L'eau de brome, l'iode en milieu alcalin, les hypochlorites oxydent le lactose à froid en acide lactobionique ; cet acide peut s'hydrolyser sous l'action des acides en d-galactose et acide d-gluconique ; on peut utiliser le procédé de ROMIJN pour son dosage ; ce procédé est commun aux aldoses et a été modifié et mis au point par BOUGAULT et PAUCHARD (21). Signalons que l'oxydation par par l'eau de brome constitue une méthode très précieuse pour déterminer d'une façon générale dans un oside l'ose dont le groupe réducteur est libre : ainsi dans le cas du lactose, l'oxydation par l'eau de brome donnant naissance à un acide aldobionique, l'acide lactobionique (20) ; celui-ci par hydrolyse donne naissance à un acide aldonique qui est l'acide d-gluconique, et l'ose non oxydé qui est le galactose. On en conclut donc que dans le lactose, l'ose dont le groupe réducteur est bloqué est le galactose, et c'est au reste de glucose que le lactose doit son pouvoir réducteur.

L'acide azotique donne avec le lactose de l'acide d-saccharique et de l'acide mucique (22, 23), provenant respectivement de l'oxydation du glucose et du galactose, la quantité d'acide mucique formé varie entre 36 % et 40 % du poids du lactose traité et peut servir au dosage du lactose (24).

Le lactose réduit la liqueur cupropotassique de Fehling ; le pouvoir réducteur est plus faible que celui du glucose. Nous reviendrons sur cette question dans la partie expérimentale.

Action des corps azotés:

Avec l'ammoniaque en solution alcoolique, le lactose peut former un composé d'addition peu stable de formule $C^{12}H^{22}O^{11}NH^3$.

Avec la phénylhydrazine, le lactose forme en milieu acétique à chaud une phényllactosazone caractéristique (25), F. 210°-212°, dont la formation est utilisée pour la différenciation avec le glucose dans les liquides biologiques comme l'urine, cette osazone étant beaucoup plus soluble que la phénylglucosazone. Parmi les autres composés de ce genre on peut citer le β-naphtyllactosehydrazone (26) (F. 203°), la p-phényllactosazone (27), F. 258, l'amylphénylhydrazone (F. 123), la benzylphénylhydrazone (F. 128).

Le lactose se combine à l'acide cyanhydrique pour former le nitrile de l'acide lactose-carbonique (28).

Fermentation:

Les diastases des levures ordinaires n'hydrolysent pas le lactose. L'invertine n'a pas d'action, l'émulsine hydrolyse en glucose et galactose. Il a été reconnu qu'en réalité cette action est due à la présence d'un ferment, la lactase dans l'émulsine; on trouve ce ferment dans l'intestin des animaux. Le lactose fermente au contraire avec facilité au contact des microorganismes du Kefèr et de certains ferments appelés f. lactiques qui fournissent de l'acide lactique; ces fermentations pouvant être provoquées par diverses bactéries ou divers champignons ; une intéressante revue de cette question a été faite dans une thèse de M. P. LOUIS (29).

Hydrolyse:

La première observation montrant que le sucre de lait donne par hydratation un sucre fermentescible

remonte à A. BOUCHARDAT (30) et à VOGEL.

PASTEUR en retira peu de temps après le galactose (31) et FUDAROWSKI (32) reconnut que le dédoublement du lactose donne naissance à deux sucres réducteurs différents.

G. BOUCHARDAT (33) parvint à isoler ces deux sucres, identifia le premier au galactose découvert par Pasteur et reconnut que l'autre, qu'il désigna transitoirement sous le nom de β-galactose, est voisin du glucose ordinaire.

Des recherches ultérieures établirent que les deux composés issus de l'hydrolyse sont bien identiques au galactose et au glucose (24).

L'hydrolyse du lactose est accompagnée d'un accroissement notable de son pouvoir réducteur, le mélange de glucose et de galactose obtenu ayant, comme nous le verrons, un pouvoir réducteur voisin de celui du glucose, cette hydrolyse est moins rapide que celle du saccharose, mais plus facile, toutes choses égales d'ailleurs que celle du maltose.

On sait que la facilité d'hydrolyse des holosides est extrêmement variable ; alors que le saccharose est scindé, à froid, par les acides faibles et même par les solutions aqueuses bouillantes d'anhydride carbonique, le tréhalose, le maltose par exemple et le lactose ne sont hydrolysés que par les acides minéraux à l'ébullition.

Cette réaction porte le nom d'interversion ou d'inversion donné par BIOT du fait que la réaction, étudiée en premier lieu avec le saccharose, modifie le sens du pouvoir rotatoire des solutions de celui-ci qui de dextrogyres deviennent lévogyres.

L'étude de la vitesse d'hydrolyse des holosides a fait l'objet de recherches approfondies et particulièrement dans le cas du saccharose.

On a admis longtemps à la suite de WILHELMY (34) que l'hydrolyse acide du saccharose pouvait être assimilée à une réaction monomoléculaire dont la vitesse V est proportionnelle à la quantité du sucre à hydrolyser :

$$V = \frac{dx}{dt} \text{ d'où } K = \frac{I}{t} \log. \text{ nég. } \frac{a}{x}$$

a étant la concentration initiale.

Cette observation a reçu plus tard une éclatante confirmation lors de la découverte de la loi d'action de masse.

En réalité, de plus récentes observations ont montré que l'hydrolyse suit seulement, du reste à peu de choses près, la loi de vitesse des réactions monomoléculaires. En particulier WILHELMY et d'autres ont montré que K ne change pas quand t varie (34), mais il semble établi que la constante K croît avec le pouvoir rotatoire initial lorsque l'hydrolyse est faite par les acides forts, et décroît quand le pouvoir rotatoire augmente en présence des acides peu dissociés (35 à 38 inclus).

Les principales et premières expériences ont montré que la vitesse de l'hydrolyse était proportionnelle à la concentration des ions H présents (39). Mais de plus récents travaux ont montré que la loi n'était pas aussi simple (40, 41, 42). Il semble que la vitesse de l'hydrolyse du saccharose n'est pas uniquement réglée par la concentration des ions H, ce qui est confirmé par le fait que, dans certains cas, cette vitesse croît par addition d'un sel neutre ayant le même anion que l'acide catalyseur (43, 44). D'autre

part, l'addition de sels organiques ralentit considérablement l'inversion du saccharose par les acides forts (50) et inversement l'activité des acides organiques (acétique, lactique) est accrue par la présence des chlorures de baryum et de sodium (51). HCl semble être le plus actif de tous les composés minéraux, de nombreux auteurs et en particulier VILLIERS ont montré qu'il suffisait de petites quantités de cet acide pour effectuer l'hydrolyse du saccharose plus lentement, mais dans d'excellentes conditions. L'acide sulfurique et l'acide chlorhydrique étaient employés généralement à 2 ou 5 %, VILLIERS conseille d'employer les acides à une concentration 20 fois plus faible, 5 millièmes de HCl suffisent pour intervertir complètement le saccharose en une heure de chauffage à 100° (52).

Il semble donc qu'actuellement aucune des théories proposées ne puisse rendre compte des particularités observées au cours de l'étude de l'hydrolyse acide du saccharose.

Nous avons déjà vu que le lactose, comme également le maltose, est beaucoup moins rapidement hydrolysable que le saccharose, et le tréhalose se scinde encore plus lentement.

L'étude de la vitesse de l'hydrolyse du lactose comme celle du maltose a montré que cette scission obéissait à peu près à la loi de WILHELMY (45-46). De nombreux travaux ont été effectués sur cette question en vue de préciser les modalités de la réaction et d'obtenir une interversion aussi complète que possible.

OST (47), un des premiers, a indiqué certaines précisions et insisté sur la durée de chauffage nécessaire pour effectuer dans des conditions bien déterminées l'hydrolyse complète du lactose. Il con-

seille de chauffer la solution de ce sucre pendant quatre heures dans le bain-marie, avec 10 parties d'acide sulfurique étendu à 2 %.

HILDT (48) dans une étude sur les laits altérés a étudié également les différents catalyseurs, acide sulfurique, acide chlorhydrique, et indique également certaines précautions pour réaliser l'hydrolyse complète et dans les meilleures conditions. Il préconise l'emploi comme catalyseurs d'acide benzènesulfonique et d'acide phénolsulfonique, qui, d'après lui, donneraient une hydrolyse plus lente mais dans de meilleures conditions, ces catalyseurs n'altérant pas les oses formées, le temps total d'hydrolyse étant de 6 heures.

DENIGÈS (49) préfère employer un mélange d'acide chlorhydrique et de chlorure de sodium dont nous avons signalé l'action activante sur l'acide correspondant, et obtient une hydrolyse complète après deux heures de chauffage.

PAUCHARD (21) dans une étude très fouillée du dosage des aldoses et des holosides aldéhydiques par l'iode, indique que l'hydrolyse du lactose n'est complète qu'au bout de quatre heures dans certaines conditions en présence d'acide sulfurique ou d'acide chlorhydrique.

En résumé, les différentes études de l'hydrolyse du lactose montrent que cette réaction n'est complète, selon les modalités, selon les catalyseurs employés, qu'au bout d'un temps variable (2 heures, 4 heures, 6 heures) ; il est donc nécessaire, dans chaque cas particulier, de suivre exactement les données qui ont été établies de façon à être certain de l'hydrolyse complète du lactose ; nous insistons précisément sur cette question importante dans la présentation de notre étude expérimentale.

DEUXIEME PARTIE

ETUDE DE L'HYDROLYSE DU LACTOSE

Nous avons divisé cette partie en 4 chapitres:

Chapitre premier. — Méthode de dosage employée.

Chapitre II. — Essais préliminaires concernant l'action des acides sur le lactose et sur ces produits d'hydrolyse: glucose et galactose.

Chapitre III. — Considérations sur les pouvoirs réducteurs du lactose et du galactose comparés à celui du glucose.

Chapitre IV. — Etude comparative de l'hydrolyse du lactose par différents catalyseurs.

CHAPITRE PREMIER

Méthode de dosage employée

Pour étudier la marche de l'hydrolyse, nous avons choisi la méthode de dosage la plus sensible de façon à obtenir le plus d'exactitude possible. Nous avons utilisé la méthode de G. BERTRAND.

Cette méthode, comme l'on sait, consiste à faire

réagir un excès de réactif cupro-alcalin sur la solution sucrée, l'oxyde cuivreux précipité, isolé, est dissous dans une liqueur acide de sulfate ferrique, et on titre volumétriquement le sulfate ferreux formé au moyen d'une solution de permanganate de potassium; la réaction peut être schématisée par les formules suivantes:

$$Cu^2O + (SO^4)^3Fe^2 + SO^4H^2 = 2SO^4Cu + H^2O + 2SO^4Fe$$

$$10SO^4Fe + 2MnO^4K + 8SO^4H^2 = 5(SO^4)^3Fe^2 + SO^4K^2 + 2SO^4Mn + 8H^2O$$

Quatre liqueurs sont nécessaires pour la technique. Nous avons employé les réactifs dont la composition a été donnée par G. BERTRAND:

A. Liqueur cuivrique:

Sulfate de cuivre pur	40 g.
Eau distillée q. s. p.	1 litre

B. Liqueur sodique:

Sel de seignette	200 g.
Soude caustique en plaques	150 g.
Eau distillée q. s. p.	1 litre

C. Liqueur ferrique:

Sulfate ferrique	50 g.
Acide sulfurique pur	100 cc.
Eau distillée q. s. p.	1 litre

La solution C ne doit pas réduire le permanganate de potassium. On s'en assure en y ajoutant avec précaution de la liqueur oxydante. Un faible changement de coloration doit apparaître déjà après quelques gouttes. Sinon, on verse du permanganate de potassium jusqu'à ce que ce résultat soit obtenu, après quoi la solution ferrique est prête pour l'usage.

D. Liqueur permanganique :

Permanganate de potassium	5 g.
Eau distillée q. s. p.	1 litre

Pour le titrage de cette solution D, nous avons utilisé l'oxalate d'ammonium de préférence. On pèse 0,25 g. d'oxalate d'ammoniaque que l'on introduit dans une fiole conique de 250 cc. avec 100 cc. d'eau distillée et 2 cc. d'acide sulfurique pur. On chauffe vers 60°-80° et on fait écouler dans la solution chaude obtenue, jusqu'à coloration rose persistante, la solution permanganique contenue dans une burette.

Soit n le nombre de cc. de permanganate de potassium dépensé. D'après les équations :

$$Cu^2O + (SO^4)^3Fe^2 + SO^4H^2 \rightarrow 2SO^4Cu + H^2O + 2SO^4Fe \qquad (1)$$

2 atomes de cuivre précipités par le sucre réducteur correspondent à 2 molécules de sulfate ferreux, ainsi que nous le montrent les deux équations suivantes :

$$10SO^4Fe + 2MnO^4K + 8SO^4H^2 \rightarrow 5(SO^4)^3Fe^2 + SO^4K^2 + 2SO^4Mn + 8H^2O \qquad (2)$$

$$5C^2H^2O^4 + 2MnO^4K + 3SO^4H^2 \rightarrow 10CO^2 + 2SO^4Mn + SO^4K^2 + 8H^2O \qquad (3)$$

Une molécule d'acide oxalique, ou ce qui revient au même, une molécule d'oxalate d'ammonium cristallisé ($C^2H^2O^4$, $2NH^3 + H^2O$) de poids moléculaire 142,1 équivaut à 2 Fe, soit d'après l'équation (1) à 2 molécules de cuivre.

D'où la valeur en cuivre de n cc. de permanganate de potassium est égale à

$$n \times \frac{63,6 \times 2}{142,1} = n \times 0,8951$$

Pour recueillir l'oxydule Cu^2O, nous avons uti-

lisé un filtre en verre poreux Jéna marque G. 4 que nous avons assujetti sur une fiole conique à filtration dans le vide de 150 cc. de capacité.

Nous avons utilisé constamment cette technique analytique et nous avons, par des essais nombreux, contrôlé et vérifié l'exactitude de cette méthode.

CHAPITRE II

Essais préliminaires concernant l'action des acides sur le lactose et ses produits d'hydrolyse: glucose et galactose

Le fait que quelques auteurs aient préféré, pour réaliser l'hydrolyse du lactose, certains catalyseurs aux autres, nous a poussé à examiner les cas suivants:

a) Comparaison entre le pouvoir réducteur d'une solution contenant parties égales de glucose et de galactose, d'une part, et d'une autre solution contenant la même quantité de lactose hydraté dosée après l'hydrolyse, d'autre part.

b) Etude de l'influence de divers catalyseurs à concentrations différentes, sur l'hydrolyse du lactose et sur le pouvoir réducteur des produits formés.

c) Comparaison entre le pouvoir réducteur d'une solution contenant parties égales de glucose et de galactose et celui de la même solution chauffée au bain-marie en présence des différents catalyseurs.

Pour examiner ces différents points, nous avons pratiqué les expériences suivantes :

1° En utilisant pour le titrage par la méthode classique de BERTRAND une solution permanganique d'un titre 0,00757, nous trouvons que :

4 g. de lactose après hydrolyse nécessitent pour le dosage 19 cc. de MnO^4K, alors que

2 g. de glucose + 2 g. de galactose n'exigent au cours du dosage que 18,9 cc. de la même solution permanganique.

2° En utilisant une solution permanganique d'un titre 0,00761, nous trouvons que :

4 g. de lactose après hydrolyse nécessitent 19 cc. de solution permanganique, alors que

2 g. de glucose + 2 g. de galactose nécessitent 18,8 cc. de la même solution.

3° En utilisant une solution permanganique d'un titre 0,00757, nous trouvons que :

4 g. de lactose hydrolysé par de l'acide chlorhydrique à 2 % exigent ..... 19,1 cc.

4 g. de lactose hydrolysé par de l'acide chlorhydrique à 1 % exigent ..... 19,1 cc.

4 g. de lactose hydrolysé par de l'acide chlorhydrique à 0,5 % exigent ..... 19,1 cc.

4 g. de lactose hydrolysé par de l'acide chlorhydrique à 0,2 % exigent ..... 19,1 cc.

4 g. de lactose hydrolysé par de l'acide phénolsulfonique exigent ..... 19,1 cc.

4 g. de lactose hydrolysé par de l'acide benzènesulfonique exigent ..... 19,1 cc.

2 g. de glucose + 2 g. de galactose chauffés au B. M. avec de l'acide chlorhydrique à 2 % exigent ..... 18,9 cc.

2 g. de glucose + 2 g. de galactose chauffés au B. M. avec de l'acide benzènesulfonique exigent ..... 18,9 cc.

2 g. de glucose + 2 g. de galactose sans chauffage exigent ..... 18,9 cc.

4° En utilisant une solution permanganique d'un titre 0,00761, nous trouvons que:

4 g. de lactose hydrolysé par de l'acide chlorhydrique à 2 % exigent ..... 19,0 cc.

4 g. de lactose hydrolysé par de l'acide chlorhydrique à 0,2 % exigent ..... 19,0 cc.

4 g. de lactose hydrolysé par de l'acide benzènesulfonique exigent ..... 19,0 cc.

2 g. de glucose + 2 g. de galactose chauffés au B. M. avec de l'acide chlorhydrique à 2 % exigent ..... 18,8 cc.

2 g. de glucose + 2 g. de galactose chauffés au B. M. avec de l'acide benzènesulfonique exigent ..... 18,8 cc.

2 g. de glucose + 2 g. de galactose sans chauffage exigent ..... 18,8 cc.

L'examen du pouvoir réducteur de ces différentes solutions nous permet de dégager les faits suivants:

a) En comparant l'action des différents catalyseurs nécessaires pour effectuer l'hydrolyse, nous n'avons pas trouvé de différences dans le pouvoir réducteur final; à différentes concentrations, les catalyseurs ont la même action, dans un temps naturellement variable.

b) Au cours de ces expériences, nous avons pu constater que le pouvoir réducteur du lactose hydrolysé est légèrement supérieur à celui d'un mélange en quantités exactement correspondantes de glucose et de galactose.

c) Par contre, nos expériences nous ont montré que dans les mêmes conditions que précédemment, les catalyseurs ne provoquent aucune modification du pouvoir réducteur du mélange équimoléculaire de glucose et de galactose.

Nous sommes en droit de penser que le pouvoir réducteur du lactose (c'est-à-dire du mélange glucose + galactose obtenu), étant supérieur à celui d'un mélange en quantités exactement correspondantes de glucose et de galactose, les sucres formés par l'hydrolyse du lactose diffèrent sensiblement du glucose et du galactose libres.

Nous pouvons signaler que VILLIERS, au cours d'une série de recherches sur l'hydrolyse du saccharose, a montré que, dans certaines conditions expérimentales, le pouvoir rotatoire du lévulose obtenu par hydrolyse du saccharose ne correspondait pas exactement à celui du lévulose, et il a pensé qu'au moment de l'hydrolyse, les sucres formés auraient donné en solution une association moléculaire n'ayant pas toutes les propriétés exactes des sucres libres.

CHAPITRE III

Considérations sur les pouvoirs réducteurs du lactose et du galactose comparés à celui du glucose

Nous avons étudié d'une façon systématique la marche de l'hydrolyse du lactose en fonction du temps. Dans ce but, nous avons déterminé les variations du pouvoir réducteur d'une solution de lactose de titre fixe que nous avons choisi de 4 g. pour 100 cc.

Si on désigne par:

p = la quantité trouvée en glucose après chaque opération,

x = la quantité de lactose hydraté hydrolysé

c = coefficient exprimant la correspondance du lactose en glucose,

c"= exprimant le coefficient de correspondance du mélange équimoléculaire de glucose et de galactose, en glucose,

c' = coefficient exprimant la correspondance du galactose en glucose,

nous pouvons établir la formule suivante:

$$p = (4-x)c + xc'' \qquad (1)$$

$$c'' = \frac{1+c'}{2}$$

1° Détermination du coefficient « C »

(exprimant la correspondance de lactose en glucose)

On utilise pour déterminer ce coefficient les deux tableaux établis par G. BERTRAND en donnant à

l'oxyde cuivreux le pouvoir réducteur du glucose et du lactose.

Il suffit, en effet, d'examiner sur les tables les quantités respectives de glucose et de lactose qui correspondent à une même quantité d'oxyde cuivreux pour avoir le rapport des poids de glucose et de lactose hydraté donnant la valeur du coefficient c.

Bien que plusieurs auteurs aient donné déjà la valeur de ce coefficient, nous avons tenu à examiner de plus près cette question dont nous devons souligner l'importance au point de vue analytique; ce problème est trop connu pour que nous n'insistions pas davantage, car il est évident que la réaction de réduction du réactif, tel que la liqueur de FEHLING, sur les sucres, n'étant pas exactement unilatérale, la courbe qui représente cette réduction en fonction de la quantité de sucre n'est pas rigoureusement linéaire; l'existence des tables de BERTRAND nous le prouve suffisamment. Il en résulte qu'il ne peut y avoir *a priori* une proportionnalité rigoureuse entre les quantités respectives de glucose et de lactose possédant le même pouvoir réducteur; ce raisonnement est vrai pour tous les sucres ne possédant pas le même pouvoir réducteur que le glucose. En conclusion, le coefficient dit de correspondance du lactose en glucose ne pourra être qu'approché, et il en sera de même, comme nous le verrons, du coefficient de correspondance du mélange équimoléculaire de glucose-galactose en glucose.

Nous donnons, pour illustrer notre argumentation, les chiffres extraits des tables de BERTRAND et qui montrent que le coefficient peut varier assez sensiblement. De façon à nous placer dans les meilleures conditions d'emploi, nous avons pris la moyenne de différentes valeurs calculées.

Premier exemple:

D'après les deux tables du lactose et du glucose
100,4 mg. Cu^2O sont obtenus par:

52,9 mg. glucose
75,0 mg. lactose anhydre
87,9 mg. lactose hydraté

$$\text{D'où « c » } = \frac{25,9}{78,9} = 0,76$$

Deuxième exemple:

D'après les mêmes tables:
72,4 mg. Cu^2O sont obtenus par:

37,50 mg. glucose
55,75,75 mg. lactose hydraté

D'où « c » = 0,674.

Troisième exemple:

D'après les mêmes tables:
39,4 mg. Cu^2O sont obtenus par:

15,65 mg. glucose
29,45 mg. lactose hydraté

D'où « c » = 0,66.

Quatrième exemple:

D'après les mêmes tables:
131,4 mg. Cu^2O sont obtenus par:

71,0 mg. glucose
105,2 mg. lactose hydraté

D'où « c » = 0,67.

D'après ces exemples, nous trouvons que « 0,67 » est la moyenne qui représente le coefficient « c ».

2° Détermination du coefficient « C" »

(exprimant la correspondance du mélange équimoléculaire de glucose et de galactose en glucose)

Il est facile de déterminer, par un raisonnement analogue à celui que nous avons utilisé précédemment, le nouveau coefficient c". Nous avons vu que cette constante qui exprime la correspondance du mélange équimoléculaire de glucose et de galactose en glucose est égale à $\frac{I + c'}{2}$, c' étant le coefficient de correspondance du galactose en glucose.

Nous pouvons donc calculer c' d'après les tables de BERTRAND du glucose et du galactose et en déduire la valeur moyenne de $c'' = \frac{I + c'}{2}$.

A titre d'exercice et pour nous placer dans les mêmes conditions expérimentales, nous nous sommes proposé de chercher les variations du pouvoir réducteur de solutions contenant des mélanges équimoléculaires de glucose et de galactose, en fonction de la concentration, c'est-à-dire que nous avons établi, selon la méthode de Bertrand, un tableau permettant de connaître les quantités respectives de mélange de sucres correspondant à différentes valeurs d'oxyde cuivreux obtenues.

Nous indiquons ci-dessous le tableau que nous avons ainsi établi en effectuant sur des solutions de différents titres le dosage de Cu^2O par la méthode de BERTRAND.

Nous avons comparé les valeurs trouvées avec celles données par les tables de BERTRAND, relatives au glucose et au galactose, les chiffres ainsi calculés figurent dans le tableau ci-dessous. Nous voyons qu'il y a une différence très minime.

Poids de glucose galactose	Oxide cuivreux	Valeurs tirées des tab. de Bertrand
50	93,17	93,30
55	101,80	101,90
60	110,40	110,40
65	118,70	118,90
70	127,35	127,40
75	135,60	135,50
80	143,76	143,70
85	151,70	151,70

Etant donné les faibles différences entre les valeurs obtenues expérimentalement et celles calculées d'après les tables de BERTRAND, nous avons établi la moyenne du coefficient c" en utilisant ces derniers; nous nous sommes du reste assuré que cette moyenne obtenue était sensiblement la même que celle calculée d'après les résultats de notre tableau expérimental.

Premier exemple:

D'après ce tableau de glucose-galactose d'une part et de glucose seul d'autre part:

101,1 mg. de Cu^2O correspondent à:
52,7 mg. glucose
54,0 mg. galactose

$$\text{D'où } c'' = \frac{52,7}{54} = 0,975.$$

Deuxième exemple:

D'après les mêmes tables:
131,4 mg. de Cu^2O correspondent à:
71,0 mg. glucose
72,5 mg. glucose + galactose
D'où c" = 0,979.

Troisième exemple:

D'après les mêmes tables:
140,4 mg. de Cu^2O correspondent à:
76,4 mg. glucose
78,0 mg. glucose + galactose
D'où c" = 0,978.

D'après ces exemples nous trouvons que « 0,977 » est la moyenne qui représente c".

Ainsi nous avons choisi d'après les considérations envisagées les valeurs suivantes pour les constantes c et c":

$c = 0{,}67$ $\qquad$ $c'' = 0{,}977$

D'après l'équation (1):

$$p = (4-x)c + xc''$$
$$p = (4-x)0{,}67 + x \times 0{,}977$$
$$p = 2{,}67 - 0{,}67x + 0{,}977x$$
$$p = 2{,}68 + 0{,}307x$$

D'où $$x = \frac{p - 2{,}68}{0{,}307}$$

CHAPITRE IV

Etude comparative de l'hydrolyse du lactose par différents catalyseurs

HYDROLYSE DU LACTOSE EFFECTUEE PAR L'ACIDE CHLORHYDRIQUE

à la concentration de 2 %

Technique:

Nous avons effectué l'hydrolyse en tubes scellés. A cet effet, nous avons réparti dans différents tubes de verre 15 cc. de solution de sucre et, après fermeture au chalumeau, les tubes ont été introduits dans

un grand bain-marie contenant un support spécial permettant de réaliser le chauffage dans l'eau bouillante. Nous avons utilisé le système très connu, utilisé couramment, en particulier dans les laboratoires de sérologie. De cette façon, les différents tubes ont été chauffés de la même manière et ont été retirés séparément dans des temps déterminés. Nous avons choisi comme unité de temps selon les cas, soit le quart d'heure, soit la demi-heure.

Après le chauffage, nous avons prélevé dans les tubes 10 cc. de la solution diluée au 1/5, et nous avons effectué le dosage selon le procédé classique de BERTRAND en ayant soin, de façon à nous placer dans les mêmes conditions que l'auteur, d'ajouter 10 cc. d'eau distillée afin de compléter le volume à 20 cc.

Nous indiquons ci-dessous les moyennes des résultats obtenues après plusieurs opérations effectuées dans les mêmes conditions.

Nous avons tenu à vérifier la pureté du lactose employé par une première détermination sur la solution primitive.

1° *Solution initiale:*

Prise d'essai: 10 cc.

Nombre de cc. de solution de permanganate de potassium (titre: 0,00757) = 13,7 cc.

$Cu^2O = 13,7 \times 0,00757 = 0,1037$ g.

D'après la table de BERTRAND, nous trouvons que cette quantité correspond à 77,6 mg. de lactose anhydre.

Poids de lactose anhydre dans la solution primitive pour 100 cc.:

$$\frac{0,0776}{10} \times 100 \times 5 = 0,0776 \times 50 = 3,88 \text{ g. lact. anh.}$$

Soit en multipliant par le coefficient 1,052 qui représente le poids de lactose hydraté correspondant à 1 g. de lactose anhydre.

p = 3,88 × 1,052 = 4,08 g. de lactose hydraté pour 100 cc.

2° *Solutions chauffées:*

a) Durée de chauffage: 1/4 d'heure, d'après la même technique.

Nous trouvons pour 10 cc. de solution diluée au 1/5:

Nombre de cc. de permanganate de potassium (titre: 0,00757) = 15,3.

Cu^2O = 15,3 × 0,00757 = 0,1158 g.

Cette quantité correspond, d'après la table de BERTRAND, en glucose à 61,9 mg.

D'où poids de sucre exprimé en glucose = 0,0619 × 50 = 3,09 g. de glucose pour 100 cc.

Nous en déduisons la quantité de lactose hydrolysé d'après la formule que nous avons indiquée précédemment.

$$x = \frac{P - 2{,}68}{0{,}307} = \frac{3{,}09 - 2{,}68}{0{,}307} = 1{,}3 \text{ g.}$$

b) Durée de chauffage: 1/2 heure.

Même technique.

Nombre de cc. de permanganate de potassium (titre: 0,00757) = 16,7.

Cu^2O = 16,7 × 0,00757 = 0,1264 g.

Poids de glucose correspondant = 0,068 g.

Poids de sucre en glucose dans la solution:

0,068 × 50 = 3,40 pour 100 cc.

$$\text{Lactose hydrolysé} = \frac{3{,}400 - 2{,}68}{0{,}307} = 2{,}3 \text{ g.}$$

c) Durée du chauffage: 3/4 d'heure.

Nombre de cc. de permanganate de potassium = 17,7.

$Cu^2O = 17,7 \times 0,00757 = 0,133985$ g.

Poids de sucre en glucose:

$0,0725 \times 50 = 3,62$ g. pour 100 cc.

$$\text{Lactose hydrolysé} = \frac{3,620 - 2,68}{0,307} = 3,07 \text{ g.}$$

d) Durée de chauffage: 1 heure.

Nombre de cc. de permanganate de potassium = 18,3.

$Cu^2O = 18 \times 0,00757 = 0,1385$.

Poids de sucre en glucose:

$0,0744 \times 50 = 3,073$ g. pour 100 cc.

$$\text{Lactose hydrolysé} = \frac{3,720 - 2,68}{0,307} = 3,2 \text{ g.}$$

e) Durée du chauffage: 1 heure 1/4.

Nombre de cc. de permanganate de potassium = 18,6.

$Cu^2O = 18,6 \times 0,00757 = 0,1408$ g.

Poids de sucre en glucose:

$0,048 \times 50 = 3,837$ g. pour 100 cc.

$$\text{Lactose hydrolysé} = \frac{3,837 - 2,68}{0,307} = 3,7 \text{ g.}$$

f) Durée du chauffage: 1 heure 1/2.

Nombre de cc. de permanganate de potassium = 18,8.

$Cu^2O = 18,3 \times 0,00757 = 0,14231$ g.

Poids de sucre en glucose:

$0,0777 \times 50 = 3,885$ g. pour 100 cc.

$$\text{Lactose hydrolysé} = \frac{3,885 - 2,68}{0,307} = 3,9 \text{ g.}$$

g) Durée du chauffage: 1 heure 3/4.

Nombre de cc. de permanganate de potassium = 19.

$Cu^2O = 19 \times 0{,}00757 = 0{,}14385$.

Poids de sucre en glucose:

$0{,}0786 \times 50 = 3{,}93$ g. pour 100 cc.

$$\text{Lactose hydrolysé} = \frac{3{,}930 - 2{,}68}{0{,}307} = 4{,}07 \text{ g.}$$

h) Durée du chauffage: 2 heures.

Nombre de cc. de permanganate de potassium = 19,1.

$Cu^2O = 19{,}1 \times 0{,}00757 = 0{,}14458$ g.

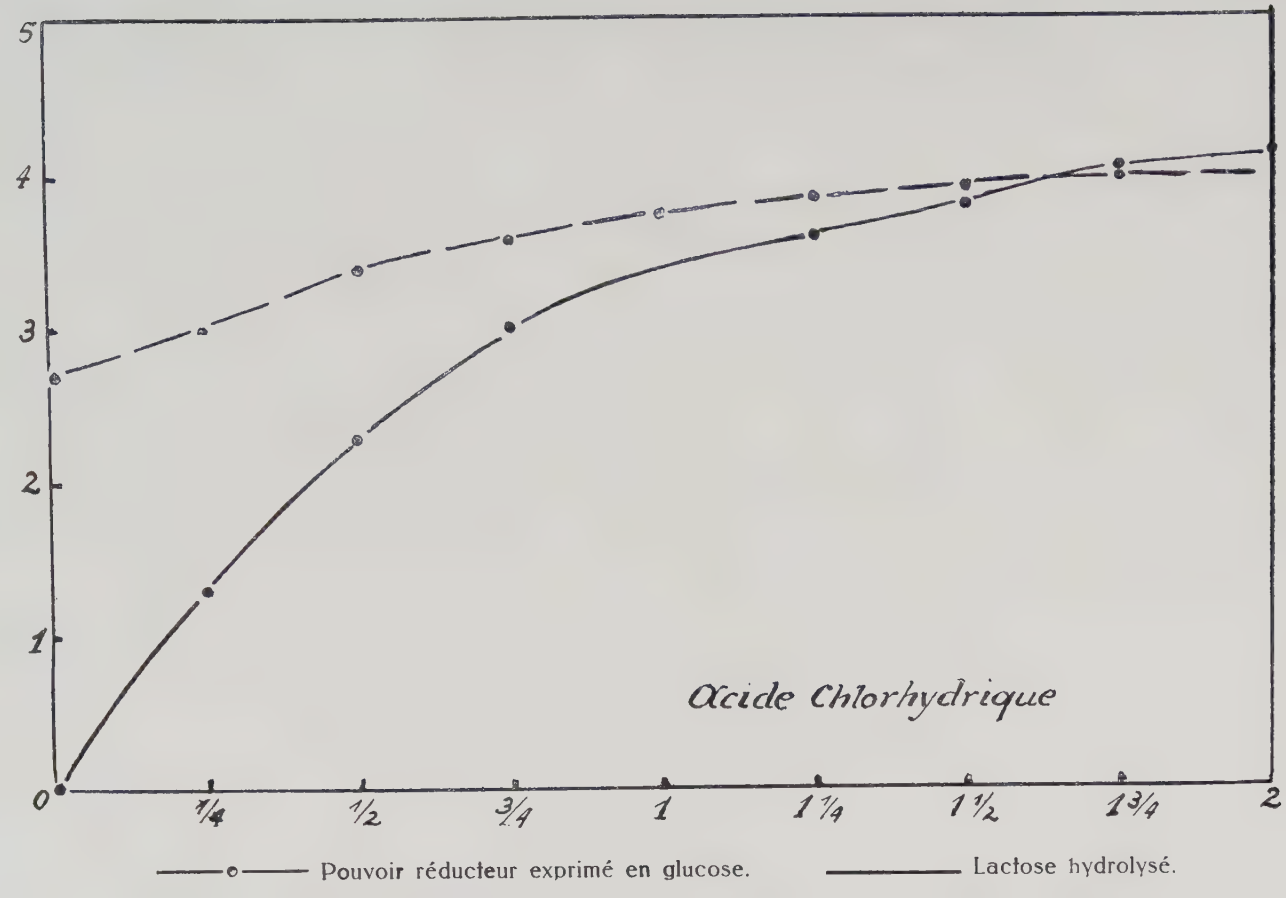
Poids de sucre en glucose:

$0{,}079 \times 50 = 3{,}95$ g. pour 100 cc.

$$\text{Lactose hydrolysé} = \frac{3{,}950 - 2{,}68}{0{,}307} = 4{,}13 \text{ g.}$$

(Voir courbe n° 1.)

Ce résultat doit sembler *a priori* tout à fait erroné puisque la quantité de lactose hydrolysé dépasse celle initialement en solution. En réalité, comme nous l'avons indiqué dans le Chapitre II, le pouvoir réducteur du mélange de glucose et de galactose obtenu par hydrolyse du lactose est légèrement supérieur à celui d'une même quantité de ces deux sucres, et c'est la raison de l'erreur par excès de la méthode employée. Nous avons tenu à indiquer les chiffres pour souligner la constance d'erreur par excès de nos résultats qui traduit un fait qui nous a semblé intéressant de souligner, à savoir: que le lactose hydrolisé possède un pouvoir réducteur sensiblement plus fort que celui du mélange équimoléculaire correspondant de glucose et de galactose.


5
4
3
2
1
0
1/4
1/2
3/4
1
1 1/4
1 1/2
1 3/4
2
Acide Chlorhydrique
Pouvoir réducteur exprimé en glucose.
Lactose hydrolysé.

HYDROLYSE DU LACTOSE EFFECTUEE PAR L'ACIDE SULFURIQUE

à la concentration de 2 %

1° *Solution initiale:*

Prise d'essai: 10 cc.

Nombre de cc. de permanganate de potasse (titre: 0,00722) = 14,3.

Cu^2O = 14,3 × 0,00722 = 0,1032 g.

Poids de lactose correspondant:

$$\frac{0{,}068 \text{ g.}}{10} \times 100 \times 5 = 3{,}862 \text{ g.}$$

= 3,86 × 1,052 = 4,062 lactose hydraté.

2° *Solutions chauffées:*

a) Durée de chauffage: 1/4 d'heure.
Même technique.

Nombre de cc. de permanganate de potassium = 16,6.

Cu^2O = 16,6 × 0,00722 = 0,11985 g.

Poids de sucre en glucose:

0,0642 × 50 = 3,21 g. pour 100 cc.

$$\text{Lactose hydrolysé} = \frac{3{,}210 - 2{,}68}{0{,}307} = 1{,}7 \text{ g.}$$

b) Durée du chauffage: 1/2 heure.

Nombre de cc. de permanganate de potassium = 17,8.

Cu^2O = 17,8 × 0,00722 = 0,12285 g.

Poids de sucre en glucose:

0,0693 × 50 = 3,465 g. pour 100 cc.

$$\text{Lactose hydrolysé} = \frac{3{,}465 - 2{,}68}{0{,}307} = 2{,}5 \text{ g.}$$

c) Durée du chauffage: 3/4 d'heure.

Nombre de cc. de permanganate de potassium = 18,7.

Cu^2O = 18,7 × 0,00722 = 0,1350 g.
Poids de sucre en glucose :

0,0732 × 50 = 3,66 pour 100 cc.

$$\text{Lactose hydrolysé} = \frac{3{,}660 - 2{,}68}{0{,}307} = 3{,}1 \text{ g.}$$

d) Durée du chauffage : 1 heure.

Nombre de cc. de permanganate de potassium = 19.
Cu^2O = 19 × 0,00722 = 0,1371 g.
Poids de sucre en glucose :

0,0746 × 50 = 3,75 g. pour 100 cc.

$$\text{Lactose hydrolysé} = \frac{3{,}730 - 2{,}68}{0{,}307} = 3{,}4 \text{ g.}$$

e) Durée du chauffage : 1 heure 1/4.

Nombre de cc. de permanganate de potassium = 19,5.
Cu^2O = 19,5 × 0,00722 = 0,1407 g.
Poids de sucre en glucose :

0,0767 × 50 = 3,835 g. pour 100 cc.

$$\text{Lactose hydrolysé} = \frac{3{,}835 - 2{,}68}{0{,}307} = 3{,}7 \text{ g.}$$

f) Durée du chauffage : 1 heure 1/2.

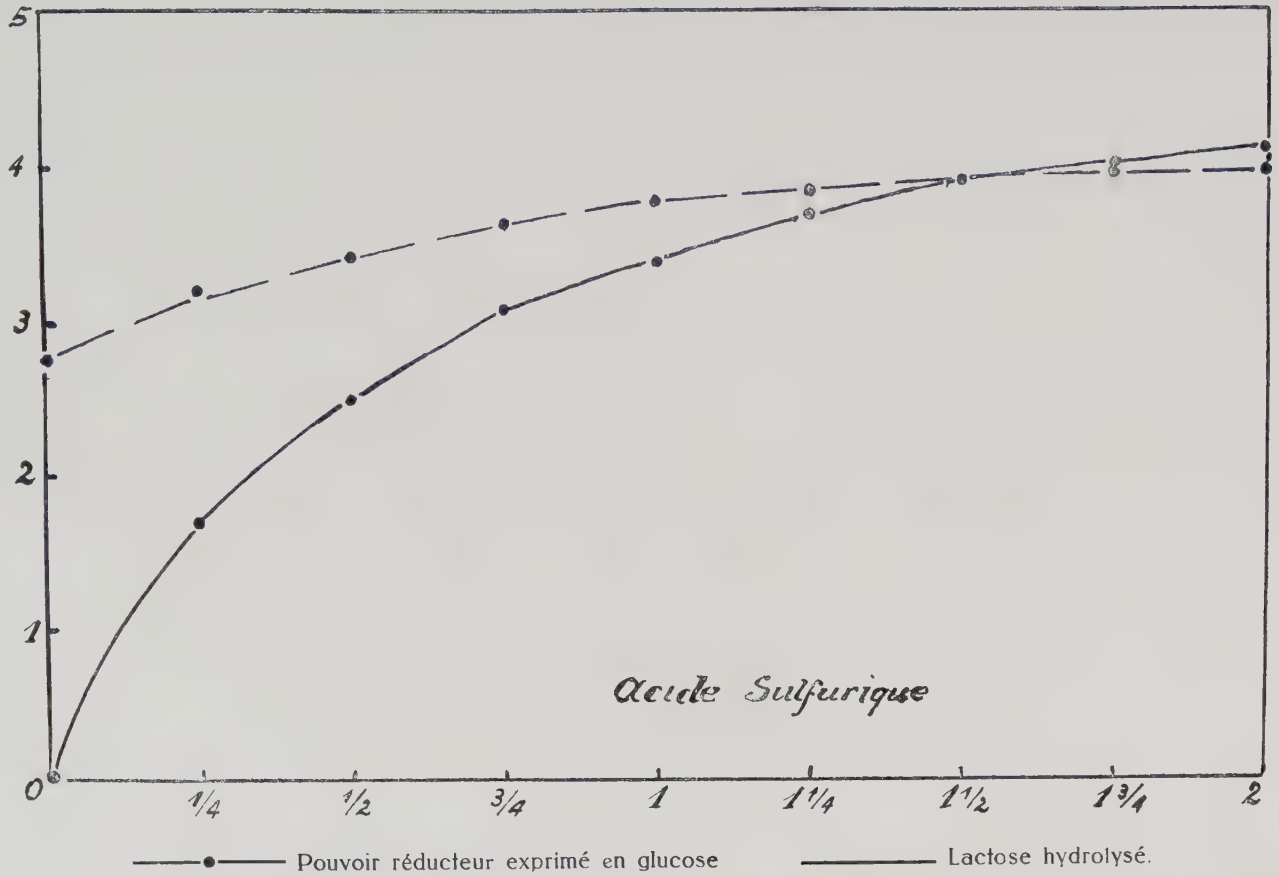
Nombre de cc. de permanganate de potassium = 19,8.
Cu^2 = 19,8 × 0,00722 = 0,1429 g.
Poids de sucre en glucose :

0,078 × 50 = 3,90 g. pour 100 cc.

$$\text{Lactose hydrolysé} = \frac{3{,}900 - 2{,}68}{0{,}307} = 3{,}9 \text{ g.}$$

g) Durée du chauffage : 1 heure 3/4.

Nombre de cc. de permanganate de potassium = 19,9.
Cu^2O = 19,9 × 0,00722 = 0,1436 g.


5
4
3
2
1
0
1/4
1/2
3/4
1
1 1/4
1 1/2
1 3/4
2
Acide Sulfurique
Pouvoir réducteur exprimé en glucose
Lactose hydrolysé.

Poids de sucre en glucose :

$$0{,}0785 \times 50 = 3{,}925 \text{ g. pour } 100 \text{ cc.}$$

$$\text{Lactose hydrolysé} = \frac{3{,}920 - 2{,}68}{0{,}307} = 4{,}03 \text{ g.}$$

h) Durée du chauffage : 2 heures.

Nombre de cc. de permanganate de potassium = 20.
$Cu^2O = 20 \times 0{,}00722 = 0{,}1444$ g.
Poids de sucre en glucose :

$$0{,}079 \times 50 = 3{,}95 \text{ g. pour } 100 \text{ cc.}$$

$$\text{Lactose hydrolysé} = \frac{3{,}950 - 2{,}68}{0{,}307} = 4{,}13 \text{ g.}$$

(Voir courbe n° 2.)

HYDROLYSE DU LACTOSE EFFECTUEE PAR L'ACIDE PHENOLSULFONIQUE

Ce catalyseur se prépare, d'après la formule donnée par HILDT, en chauffant au bain-marie pendant 6 à 8 heures le mélange ci-dessous :

Phénolsulfonate de sodium	18 g.
Acide sulfurique	4,9 g.
Eau distillée q. s. p.	100 cc.

N.-B. — Pour effectuer l'hydrolyse, on prélève 20 cc. de ce mélange que l'on introduit dans un ballon jaugé de 100 cc. contenant 20 cc. de solution de lactose à 4 %. On complète à 100 cc., ce qui donne la solution habituelle renfermant 8 g. pour 1000 de lactose.

Technique :

Solution initiale. Prise d'essai : 10 cc.
Nombre de cc. de permanganate de potassium (titre :

0,00761) = 13,6.
Cu^2O = 13,6 × 0,00761 = 0,10249 g.
Poids de lactose anhydre :

0,0775 × 50 = 3,87 g. pour 100 cc.

Lactose hydraté = 3,875 × 1,052 = 4,07 g.

a) Durée du chauffage : 1/2 heure.

Nombre de cc. de permanganate de potassium = 14,7.
Cu^2O = 14,7 × 0,00761 = 0,11146 g.
Poids de sucre en glucose = 0,0595 × 50 = 2,975 g.

$$\text{Lactose hydrolysé} = \frac{2{,}970 - 2{,}68}{0{,}307} = 1 \text{ g.}$$

b) Durée du chauffage : 1 heure.

Nombre de cc. de permanganate de potassium = 16,2.
Cu^2O = 16,2 × 0,00761 + 0,1232 g.
Poids de sucre en glucose = 0,0661 × 50 = 3,305 g.

$$\text{Lactose hydrolysé} = \frac{3{,}305 - 2{,}68}{0{,}307} = 2 \text{ g.}$$

c) Durée du chauffage : 1 heure 1/2.

Nombre de cc. de permanganate de potassium = 17,3.
Cu^2O = 17,3 × 0,00761 = 0,1316 g.
Poids de sucre en glucose :

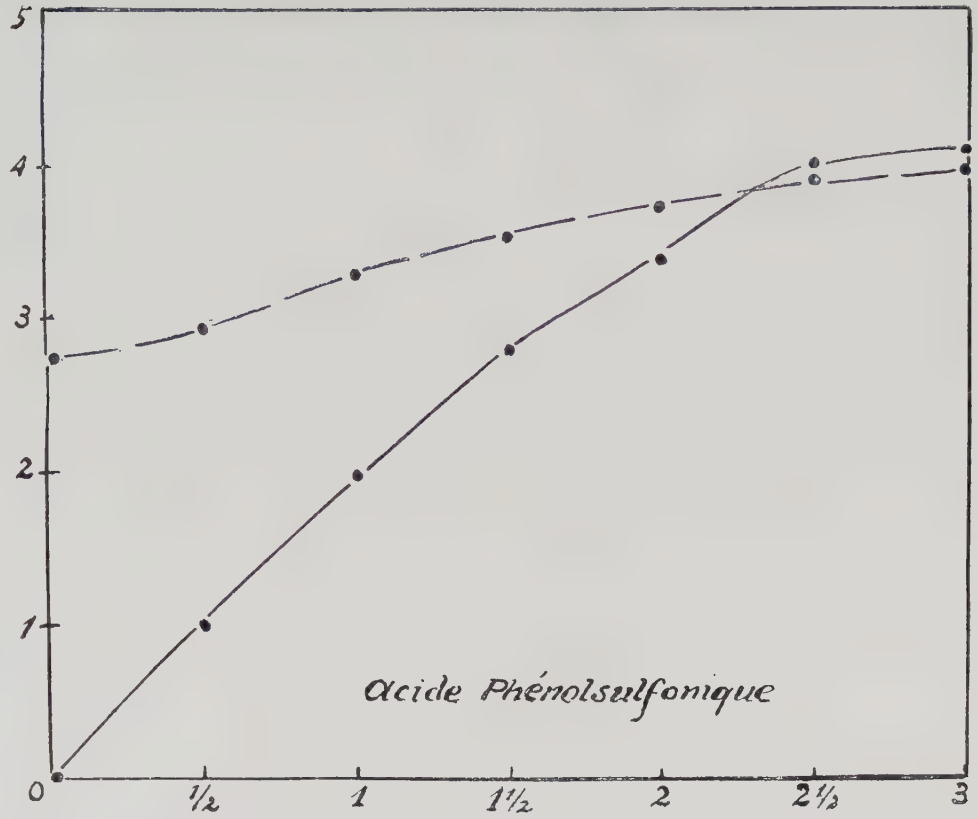
0,0711 × 50 = 3,55 g. pour 100 cc.

$$\text{Lactose hydrolysé} = \frac{3{,}550 - 2{,}68}{0{,}307} = 2{,}8 \text{ g.}$$

d) Durée du chauffage : 2 heures.

Nombre de cc. de permanganate de potassium = 18,1.
Cu^2O = 18,1 × 0,00761 = 0,1377 g.
Poids de sucre en glucose :

0,0749 × 50 = 3,74 g. pour 100 cc.



Pouvoir réducteur exprimé en glucose. Lactose hydrolysé.

Courbe n° 3

$$\text{Lactose hydrolysé} = \frac{3{,}740 - 2{,}68}{0{,}307} = 3{,}4 \text{ g.}$$

e) Durée du chauffage: 2 heures 1/2.

Nombre de cc. de permanganate de potassium = 18,8.
$Cu^2O = 18{,}8 \times 0{,}00761 = 0{,}1430$ g.
Poids de sucre en glucose:

$$0{,}0782 \times 50 = 3{,}91 \text{ g. pour 100 cc.}$$

$$\text{Lactose hydrolysé} = \frac{3{,}910 - 2{,}68}{0{,}307} = 4 \text{ g.}$$

f) Durée du chauffage: 3 heures.

Nombre de cc. de permanganate de potassium = 19.
$Cu^2O = 19 \times 0{,}00761 = 0{,}1445$ g.
Poids de sucre en glucose:

$$0{,}078 \times 50 = 3{,}95 \text{ g. pour 100 cc.}$$

$$\text{Lactose hydrolysé} = \frac{3{,}950 - 2{,}68}{0{,}307} = 4{,}13 \text{ g.}$$

(Voir courbe n° 3.)

HYDROLYSE DU LACTOSE EFFECTUEE PAR L'ACIDE BENZENESULFONIQUE

Ca catalyseur se prépare comme suit, d'après la formule donnée par HILDT:

Benzènesulfonate de sodium	18 g.
Acide sulfurique pur	4,9 g.
Eau distillée q. s. p.	100 cc.

N.-B. — Ce mélange est chauffé pendant 6 à 8 heures au bain-marie et s'emploie aux mêmes doses que le précédent.

Technique:

Solution initiale. Prise d'essai: 10 cc.

Nombre de cc. de permanganate de potassium (titre: 0,00761) = 13,6.

Cu^2O = 13,6 × 0,00761 = 0,10349 g.

Poids de lactose anhydre:

3,0775 × 50 = 3,87 g. pour 100 cc.

3,875 × 1,052 = 4,07 g. lactose hydraté.

Solutions chauffées:

a) Durée du chauffage: 1/2 heure.

Nombre de cc. de permanganate de potassium = 15.

Cu^2O = 15 × 0,00761 = 0,11415 g.

Poids de sucre en glucose:

0,0608 × 50 = 3,040 g. pour 100 cc.

$$\text{Lactose hydrolysé} = \frac{3{,}040 - 2{,}68}{0{,}307} = 1{,}2 \text{ g.}$$

b) Durée du chauffage: 1 heure.

Nombre de cc. de permanganate de potassium = 15,9.

Cu^2O = 15,9 × 0,00761 = 0,1209 g.

Poids de sucre en glucose:

0,0648 × 50 = 3,24 g. pour 100 cc.

$$\text{Lactose hydrolysé} = \frac{3{,}240 - 2{,}68}{0{,}307} = 1{,}8 \text{ g.}$$

c) Durée du chauffage: 1 heure 1/2.

Nombre de cc. de permanganate de potassium = 16,8.

Cu^2O = 16,8 × 0,00761 = 0,1278 g.

Poids de sucre en glucose:

0,0689 × 50 = 3,445 g. pour 100 cc.

$$\text{Lactose hydrolysé} = \frac{3{,}440 - 2{,}68}{0{,}307} = 2{,}5 \text{ g.}$$

d) Durée du chauffage: 2 heures.

Nombre de cc. de permanganate de potassium = 17,7.
Cu^2O = 17,7 × 0,00761 = 0,13469 g.
Poids de sucre en glucose:

0,073 × 50 = 3,65 g. pour 100 cc.

$$\text{Lactose hydrolysé} = \frac{3{,}650 - 2{,}68}{0{,}307} = 3{,}1 \text{ g.}$$

e) Durée du chauffage: 2 heures 1/2.

Nombre de cc. de permanganate de potassium = 18,5.
Cu^2O = 18,5 × 0,00761 = 0,1407 g.
Poids de sucre en glucose:

0,076 × 50 = 3,83 g. pour 100 cc.

$$\text{Lactose hydrolysé} = \frac{3{,}850 - 2{,}68}{0{,}307} = 3{,}7 \text{ g.}$$

f) Durée du chauffage: 3 heures.

Nombre de cc. de permanganate de potassium = 18,8.
Cu^2O = 18,8 × 0,00757 = 0,1423 g.
Poids de sucre en glucose:

0,0777 × 50 = 3,88 g. pour 100 cc.

$$\text{Lactose hydrolysé} = \frac{3{,}890 - 2{,}68}{0{,}307} = 3{,}9 \text{ g.}$$

g) Durée du chauffage: 3 heures 1/2.

Nombre de cc. de permanganate de potassium = 19.
Cu^2O = 19 × 0,00757 = 0,1438 g.
Poids de sucre en glucose:

0,0786 × 50 = 3,93 g. pour 100 cc.

$$\text{Lactose hydrolysé} = \frac{3{,}930 - 2{,}68}{0{,}307} = 4{,}07 \text{ g.}$$

h) Durée du chauffage : 4 heures.

Nombre de cc. de permanganate de potassium = 19,1.

$Cu^2O = 19{,}1 \times 0{,}00757 = 0{,}1445$ g.

Poids de sucre en glucose :

$$0{,}079 \times 50 = 3{,}95 \text{ g. pour } 100 \text{ cc.}$$

$$\text{Lactose hydrolysé} = \frac{3{,}950 - 2{,}68}{0{,}307} = 4{,}13 \text{ g.}$$

(Voir courbe n° 4.)

HYDROLYSE DU LACTOSE PAR LES ACIDES ORGANIQUES

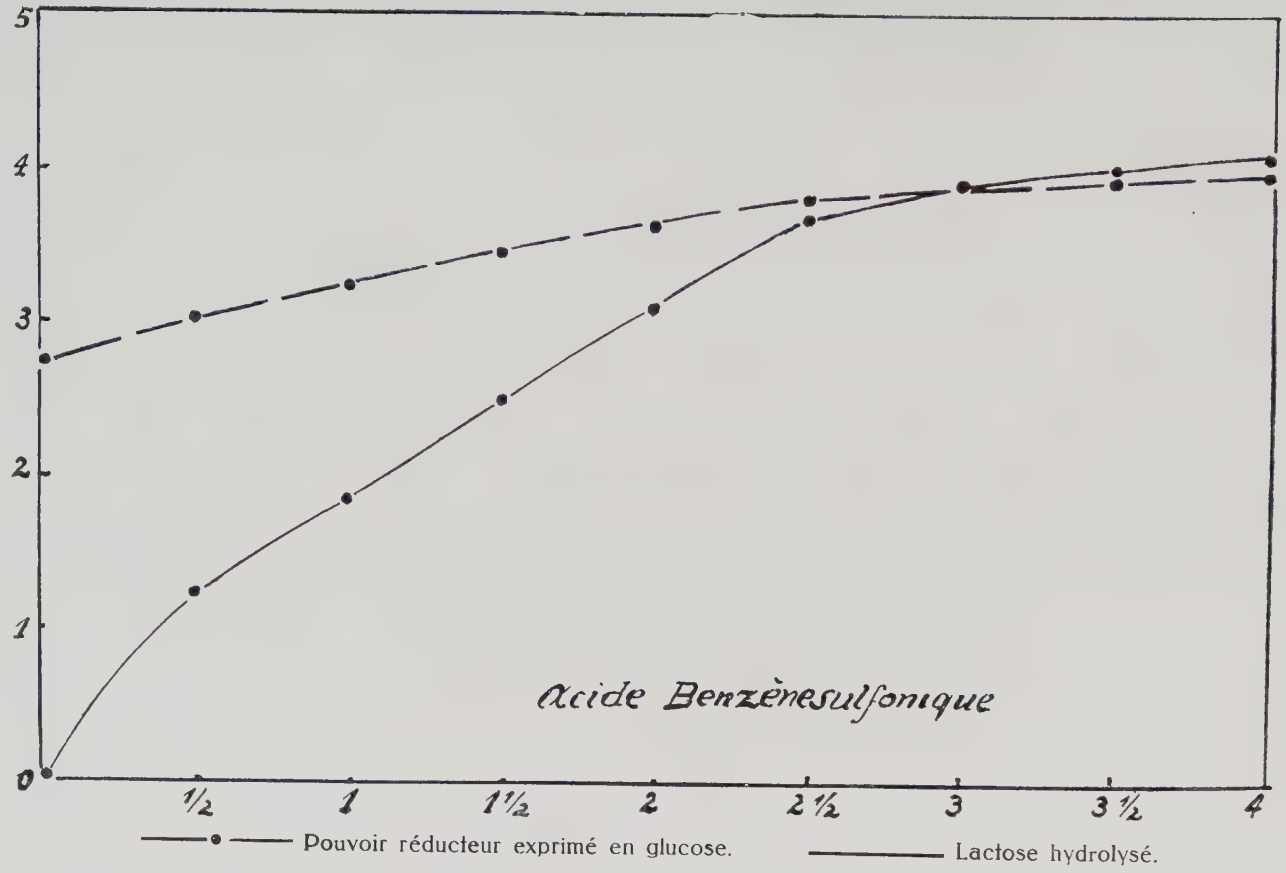
Nous avons rappelé dans la première partie que les acides organiques ont une activité beaucoup moindre que les acides minéraux pour réaliser l'hydrolyse des sucres et en particulier du saccharose dont l'étude a été approfondie.

Nous donnons maintenant les résultats que nous avons trouvés au cours de l'étude de l'hydrolyse du lactose par certains acides organiques. Nous avons examiné successivement l'action des acides trichloracétique, acétique, lactique : comme les différents auteurs qui ont étudié cette question, nous avons trouvé que l'hydrolyse est beaucoup plus lente et n'est complète qu'au bout de plusieurs heures.

Nous donnons à titre indicatif les résultats concernant l'action de l'acide trichloracétique et de l'acide acétique.

1° Hydrolyse en présence d'acide trichloracétique à la concentration de 2 %. Nous avons suivi la même technique.

Durée du chauffage : 11 heures.


5
4
3
2
1
0
1/2
1
1 1/2
2
2 1/2
3
3 1/2
4
Acide Benzènesulfonique
Pouvoir réducteur exprimé en glucose.
Lactose hydrolysé.

Courbe n° 4

Nombre de cc. de permanganate de potassium (titre: 0,00497) = 26,2.

$Cu^2O = 26,2 \times 0,00497 = 0,1302$ g.

Poids de sucre en glucose:

$$0,0708 \times 50 = 3,515 \text{ g. pour } 100 \text{ cc.}$$

$$\text{Lactose hydrolysé} = \frac{3,510 - 2,68}{0,307} = 2,6 \text{ g.}$$

2° Hydrolyse en présence d'acide acétique à la concentration de 2 %.

Durée du chauffage: 20 heures.

Nombre de cc. de permanganate de potassium (titre: 0,00497) = 27,2.

$Cu^2O = 27,2 \times 0,00497 = 0,1351$ g.

Poids de sucre en glucose:

$$0,0734 \times 50 = 3,67 \text{ g. pour } 100 \text{ cc.}$$

$$\text{Lactose hydrolysé} = \frac{3,670 - 2,68}{0,307} = 3,2 \text{ g.}$$

Durée du chauffage: 35 heures.

Nombre de cc. de permanganate de potassium: 29,2.

$Cu^2O = 29,2 \times 0,00497 = 0,1451$ g.

Poids de sucre en glucose:

$$0,0794 \times 50 = 3,97 \text{ g. pour } 100 \text{ cc.}$$

$$\text{Lactose hydrolysé} = \frac{3,970 - 2,68}{0,307} = 4,1 \text{ g.}$$

TROISIEME PARTIE

CHAPITRE PREMIER

Hydrolyse du lactose en présence du glucose

Avant d'appliquer les résultats antérieurement établis au cours de l'étude de l'hydrolyse du lactose, nous avons tenu à examiner l'influence de la présence d'autres sucres, tel que le glucose, sur la réaction d'interversion.

Plusieurs expériences et les nombreux essais que nous avons dû effectuer au cours de la mise au point du dosage du mélange de lactose et de glucose nous permettent de présenter les observations suivantes:

L'hydrolyse du lactose paraît être légèrement influencée par la présence du glucose; nous avons remarqué, en effet, que, selon les cas, c'est-à-dire selon les proportions respectives de glucose et de lactose en présence, en suivant la même technique indiquée dans le précédent chapitre, le temps nécessaire pour obtenir le pouvoir réducteur maximum et constant est sensiblement supérieur au temps nécessaire pour arriver, dans les mêmes conditions d'acidité, à un pouvoir réducteur maximum et constant dans le cas du lactose seul.

En variant les quantités de lactose et de glucose, nous avons trouvé que le pouvoir réducteur est stabilisé après des temps qui varient de 2 heures à 2 heures et demie; cette dernière durée semble, d'après nos expériences, dans les conditions d'acidité que nous avons précisées (soit par exemple sous une concentration d'acide chlorhydrique de 2 %), être le délai maximum nécessaire dans tous les cas pour être assuré de l'hydrolyse complète du lactose.

En conséquence, dans les essais que nous allons décrire plus loin, relatifs au dosage du mélange de lactose et de glucose, nous avons effectué l'hydrolyse du lactose pendant une durée de 2 heures et demie, temps qui nous a paru maximum pour réaliser l'hydrolyse totale du lactose dans ces conditions.

CHAPITRE II

Dosage du lactose et du glucose dans une même solution

Nous avons essayé d'appliquer les principales données et observations relevées au cours de notre étude précédente au dosage du lactose et du glucose présents dans une même solution.

Ce cas peut être pratiquement celui que l'on peut rencontrer dans l'urine et particulièrement dans certaines urines de femmes enceintes, et bien que nous n'ayons pas eu le temps d'examiner cette question, il nous semble que l'on pourrait, après une mise au point suffisante, appliquer la technique que nous avons étudiée ; nous dirons à la fin du chapitre la valeur de cette méthode et ce qu'on est en droit d'en attendre.

Pour doser deux sucres, lactose et glucose, dans une même solution, il nous faut, comme on le sait, deux équations permettant de tirer les deux inconnues.

Une méthode très courante consiste, comme nous l'avons rappelé brièvement dans notre introduction, à effectuer par exemple :

1° une détermination polarimétrique,

2° une détermination du pouvoir réducteur.

Cette technique, comme nous l'avons déjà dit,

n'est applicable que lorsque la concentration en sucre est au moins égale à 10 pour 100, au-dessous, la détermination polarimétrique manque de précision.

A titre d'indication nous donnons une détermination que nous avons tenu à faire dans ces conditions de façon à nous assurer de notre technicité.

Nous avons dosé un mélange contenant pour 100 cc.: 5,12 g. de lactose et 1,50 g. de glucose.

a) Sur la solution diluée au 1/2 et additionnée de 2 gouttes d'ammoniaque pour stabiliser le pouvoir rotatoire, nous avons déterminé la déviation polarimétrique.

Nous avons trouvé: 3° 26', soit 3°,43.

La solution primitive aurait donc donné une déviation $A = 2 \times 3{,}43 = 6.86$.

b) Nous avons déterminé le pouvoir réducteur sur la solution diluée au 1/10; nous avons trouvé n cc. de permanganate de potassium (titre: 0,00771) = 12,1 sur une prise d'essai de 10 cc.

$Cu^2O = 12{,}1 \times 0{,}00771 = 0{,}0933$ g.

Poids de glucose correspondant = 0,489 g.

Ce qui fait pour la solution initiale une concentration de sucres exprimée en glucose de 4,89 g. pour 100 cc.

Nous pouvons établir les deux équations suivantes:

$$(1)\quad A = \frac{\alpha \times l}{v} + \frac{\alpha' \times l}{v}$$

$$(2)\quad P = x + cy$$

x = quantité de glucose pour 100 cc.
y = quantité de lactose pour 100 cc.
c = coefficient de correspondance du lactose en glucose = 0,67.
v = 100°.
l = 2 dm.

P = Poids de sucre dosé et exprimé en glucose = 4,89.

A = déviation polarimétrique obtenue = 6,86.

α = pouvoir rotatoire du glucose = 52.

α' = pouvoir rotatoire du lactose = 52,52.

On a donc

$$(1)\quad 6{,}86 = \frac{52 \times 2x}{100} + \frac{52{,}52 \times 2y}{100}$$

$$(2)\quad 4{,}89 = x + 0{,}67\,y$$

d'où nous tirons

$$6{,}86 = 1{,}04\,(4{,}89 - 0{,}67\,y) + 1{,}050\,y$$
$$= 5{,}0856 - 0{,}6968\,y + 1{,}050\,y$$

D'où $1{,}7744 = 0{,}3536\,y$

$y = 5{,}02$ au lieu de 5,12 de lactose

$x = 1{,}526$ au lieu de 1,50 de glucose

Nous obtenons ainsi un résultat approchant de 2 % pour le lactose et entre 1 et 2 % pour le glucose. Etant donné l'imprécision due à la détermination du coefficient c, ainsi que nous l'avons exprimé au début de notre travail, nous considérons que la détermination ne peut donner dans ces conditions une plus grande exactitude.

Application de notre étude analytique au dosage du lactose en présence du glucose

Lorsque le taux des sucres est inférieur à 10/1000, la méthode précédente ne peut être employée, comme nous l'avons déjà souligné.

Nous nous sommes attaché, en dernier lieu, à vérifier par des expériences et des observations nom-

breuses, ce que pourrait donner l'emploi de la méthode analytique basée sur deux examens:

1° Un dosage du pouvoir réducteur avant l'hydrolyse.
2° — après —

En supposant que:

p = quantité de sucre exprimée en glucose avant l'hydrolyse
p' = quantité de sucre exprimée en glucose après l'hydrolyse
x = quantité de glucose
y = quantité de lactose
0,67 = coefficient de correspondance du lactose en glucose
0,977 = coefficient de correspondance du galactose en glucose

nous pouvons établir les deux équations qui nous permettent de tirer x et y:

(1) $p = x + 0{,}67\ y$
(2) $p' = x + 0{,}977\ y$

Nous indiquons les différents dosages effectués sur des solutions de concentration variables en lactose et en glucose:

1° Solution contenant pour 100 cc.: glucose 2 g.
lactose 2 g.

a) Dosage du pouvoir réducteur immédiat.

Après dilution au 1/5, nous avons dosé le pouvoir réducteur.

Prise d'essai: 10 cc.

Nombre de cc. de permanganate de potassium (titre: 0,00645) = 18,6 g.

$Cu^2O = 18{,}6 \times 0{,}00645 = 0{,}1199$ g.

Poids de glucose correspondant = 0,064 g.

D'où poids de sucre exprimé en glucose pour 100 cc.:

$p = 0{,}0642 \times 50 = 3{,}21$ g.

b) Dosage du pouvoir réducteur après hydrolyse.

Nous avons effectué l'hydrolyse par l'acide sulfurique à 2 % et chauffage de 2 heures 1/2, ainsi que nous l'avons indiqué dans le Chapitre premier de la 3e Partie, la solution étant diluée au 1/5. Après hydrolyse, nous avons dosé le pouvoir réducteur.

Prise d'essai 10 cc.

Nombre de cc. de permanganate de potassium (titre: 0,00645) = 21,9 g.

$Cu^2O = 21,9 \times 0,00645 = 0,14125$ g.

Poids de glucose correspondant: 0,077 g.

D'où poids de sucre exprimé en glucose pour 100 cc.:

$p' = 0,077 \times 50 = 3,85$ g.

$p' = 3,85$ g.

On a donc:

(1) $3,21 = x + 0,67\ y$

(2) $3,85 = x + 0,977\ y$

D'où Lactose $y = 2,08$ au lieu de 2 g.

Glucose $x = 1,817$ au lieu de 2 g.

2e Solution contenant pour 100 cc.: glucose 1,5 g.
lactose 2,5 g.

Même technique.

a) Dosage du pouvoir réducteur immédiat, après dilution au 1/5.

Nombre de cc. de permanganate de potassium (titre: 0,00497) = 23,6.

$Cu^2O = 23,6 \times 0,00497 = 0,1173$ g.

Poids de glucose correspondant = 0,0627 g.

$P = 0,0627 \times 50 = 3,135$ g.

b) Dosage du pouvoir réducteur après hydrolyse.

Nombre de cc. de permanganate de potassium (titre: 0,00497) = 29,3.

$Cu^2O = 29,3 \times 0,0497 = 0,1456$ g.

Poids de glucose correspondant = 0,0797 g.

$P = 0{,}0797 \times 50 = 3{,}985$ g.

D'où (1) .. $3{,}135 = x + 0{,}670\ y$

(2) .. $3{,}985 = x + 0{,}977\ y$

Lactose $y = 2{,}70$ au lieu de 2,50

Glucose $x = 1{,}32$ au lieu de 1,50

3° Solution contenant pour 100 cc.: glucose 0,546 g.
lactose 0,208 g.

Même technique sur la solution diluée au 1/2.

a) Dosage du pouvoir réducteur immédiat:

Nombre de cc. de permanganate de potassium (titre: 0,00771) = 9,2.

$Cu^2O = 9{,}2 \times 0{,}00771 = 0{,}07093$ g.

Poids de glucose correspondant:

$0{,}0365 \times 20 = 0{,}730$ g. pour 100 cc.

b) Dosage du pouvoir réducteur après hydrolyse:

Nombre de cc. de permanganate de potassium (titre: 0,00771) = 10.

$Cu^2O = 10 \times 0{,}00771 = 0{,}0771$ g.

Poids de glucose correspondant:

$0{,}0398 \times 20 = 0{,}796$ g. pour 100 cc.

D'où (1) $0{,}730 = x + 0{,}670\ y$

(2) $0{,}796 = x + 0{,}977\ y$

D'où Lactose $y = 0{,}215$ au lieu de 0,208

Glucose $x = 0{,}586$ au lieu de 0,546

4° Solution contenant pour 100 cc.: lactose 2,99 g.
glucose 3,00 g.

Même technique sur la solution diluée au 1/10.

a) Dosage du pouvoir réducteur immédiat:

Nombre de cc. de permanganate de potassium (titre: 0,00559) = 17,2.

$Cu^2O = 17{,}2 \times 0{,}00559 = 0{,}0961$ g.

Poids de glucose correspondant:

$0{,}0504 \times 100 = 5{,}04$ g. pour 100 cc.

b) Dosage du pouvoir réducteur après hydrolyse:
Nombre de cc. de permanganate de potassium (titre: 0,00559) = 20.
Cu^2O = 20 × 0,0059 = 0,1118 g.
Poids de glucose correspondant:
0,0594 × 100 = 5,94 g. pour 100 cc.
D'où (1) .. 5,04 = x + 0,670 y
(2) .. 5,94 = x + 0,977 y
D'où Lactose y = 2,93 au lieu de 2,99
Glucose x = 3,07 au lieu de 3,00

A part les derniers exemples, nous voyons que la quantité du lactose trouvée est toujours supérieure à celle présente dans la solution, ceci ne doit pas nous étonner étant donné les remarques que nous avons suffisamment précisées dans le chapitre relatif à l'étude de l'hydrolyse du lactose et où nous avons mis en évidence la légère exaltation du pouvoir réducteur du lactose hydrolysé ; les expériences ont été suffisamment nombreuses et ces derniers essais nous prouvent encore que l'hydrolyse du lactose donne naissance à un mélange de glucose et de galactose ayant un pouvoir réducteur légèrement plus élevé que celui des sucres libres; en conclusion, les dosages réalisés nous donnent une imprécision et des résultats entachés le plus souvent d'erreur par excès sur la détermination du lactose, erreur pouvant être selon les concentrations de 2 à 8%: il s'ensuit que la quantité de glucose se trouve entachée d'erreur par défaut dans une proportion beaucoup plus grande pouvant atteindre 10%. Nous avons également insisté suffisamment sur le fait que les coéfficients choisis pour exprimer la correspondance du lactose d'une part et du mélange de glucose-galactose d'autre part en glucose, ne sont pas constants et varient selon les concentrations, cette raison suffit déjà pour que les résultats obtenus

n'aient pas une précision très grande.

Au sujet du coefficient de correspondance du mélange équimoléculaire de glucose et de galactose, il aurait été intéressant d'essayer de déterminer cette constante en tenant compte uniquement de la variation du pouvoir réducteur du lactose après hydrolyse comparativement à ce pouvoir initial, le temps nous a manqué pour approfondir cette question analytique.

Néanmoins, nous voyons que, par la méthode classique de dosage que nous avons appliquée au mélange de glucose et de lactose, on peut apprécier le lactose avec une approximation en moyenne de 5%, la détermination du glucose étant moins précise. Dans la pratique courante, telle que la détermination de ces sucres dans un liquide biologique, cette approximation peut être suffisante pour la clinique, avec cette restriction d'emploi qu'il faudra naturellement une étude de mise au point dans le cas, par exemple, du dosage dans l'urine.

Conclusions

Les résultats obtenus au cours de notre étude nous permettent de présenter les observations suivantes :

1° Nous avons vérifié, en accord avec tous les travaux antérieurs, que l'hydrolyse du lactose est fonction de la qualité de l'acide employé comme catalyseur et de sa concentration.

Après de nombreux essais nous avons choisi l'acide sulfurique ou l'acide chlorhydrique à la concentration de deux pour cent, nous avons trouvé que l'hydrolyse semblait totale ou tout au moins que le pouvoir réducteur cessait d'augmenter au bout de deux heures, dans les conditions expérimentales dans lesquelles nous nous sommes placés, c'est-à-dire après chauffage réalisé dans le bain marie bouillant en tube scellé.

L'hydrolyse du lactose est un peu plus lente si ce dernier se trouve en présence d'autres sucres comme le glucose ; la durée de stabilisation du pouvoir réducteur final varie, selon les proportions respectives des deux sucres, de deux heures un quart à deux heures et demi, délai qui semble maximum pour toutes nos observations.

2° Nous avons examiné l'action de différents acides minéraux et organiques et nous avons trouvé que l'hydrolyse est plus lente avec ces derniers et que le

pouvoir réducteur final n'est stable dans certains cas qu'au bout de 14 heures, voire même au bout de 30 heures.

Nous avons tenu à vérifier que les acides forts, acide chlorhydrique et acide sulfurique, employés à la concentration de 2 pour cent n'altéraient pas les sucres et nous avons à cet effet tenu compte des observations de certains auteurs et en particulier de HILDT qui préconise l'emploi des acides benzènesulfonique et phénolsulfonique; dans les conditions dans lesquelles nous nous sommes placés nous avons trouvé que la vitesse d'hydrolyse, dans le cas de l'emploi des acides sulfoniques précédents est sensiblement une fois et demi et deux fois plus faibles, le pouvoir réducteur ne devenant maximum qu'au bout de quatre heures dans le cas de l'acide benzènesulfonique et au bout de trois heures dans le cas de phénolsulfonique.

3° Nous avons également vérifié que le pouvoir réducteur maximum, obtenu par hydrolyse du lactose, dans les mêmes conditions par l'acide chlorhydrique à différents titres (2%, 1% 0,5%, 0,2%) et également par les dérivés sulfoniques était exactement le même; ceci nous a donc confirmé que sous l'action des acides sulfurique et chlorhydrique à 2%, concentration qui nous a semblé la meilleure dans l'emploi pratique, les sucres ne subissent pas d'altération puisque le pouvoir réducteur final n'est pas modifié quelque soit la concentration de l'acide ou la qualité de l'acide employé.

4° Par contre nous avons remarqué que dans tous nos essais le pouvoir réducteur maximum obtenu à la suite de l'hydrolyse du lactose est légèrement supérieur à celui d'un mélange équimoleculaire de glucose et de galactose correspondant.

Cette modification du pouvoir réducteur final ne peut être attribuée à une altération des sucres formés au cours de l'hydrolyse car nous avons vérifié qu'un mélange semblable de glucose et de galactose présente après chauffage dans les mêmes conditions le même pouvoir réducteur qu'au début.

Il nous est difficile actuellement de donner une explication de ce phénomène mais nous avons signalé que de tels faits ont été trouvés et en particulier VILLIERS a observé que dans certains cas au cours de l'hydrolyse du saccharose le lévulose ne possède pas le même pouvoir rotatoire que le sucre libre.

5° Nous avons essayé d'appliquer les observations précédemment faites, au cours de l'étude antérieure au dosage d'un mélange de glucose et de lactose.

Les résultats obtenus sont toujours entachés d'erreur par excès pour ce qui est de la détermination du lactose, erreur qui en moyenne est de 5%, celle faite sur le glucose étant sensiblement plus forte et par défaut, environ de 8%.

Nous avons discuté les causes du peu de sensibilité de la méthode et souligné le fait que d'une part les coéfficients de correspondance du lactose et du mélange glucose-galactose en glucose ne sont pas rigoureusement constants et d'autre part que, comme nous l'avons dit plus haut, le pouvoir réducteur maximum obtenu par hydrolyse du lactose est légèrement supérieur à celui d'un mélange équimoléculaire de glucose et de galactose.

Du reste nous signalerons pour terminer que MAQUENNE (53) indique que souvent le pouvoir réducteur de certains sucres comme le glucose est influencé par la présence d'autres hydrates de carbone et que par suite l'emploi des tables dressées pour le produit pur ne donne plus alors que des résultats approchés, le plus souvent par excès.

Néanmoins il nous semble que la méthode classique que nous avons étudiée peut être utilisée, avec les restrictions que nous avons faites, et est susceptible d'être appliquée, après une mise au point appropriée, au dosage du mélange de lactose et de glucose dans les liquides biologiques et en particulier dans l'urine.

BIBLIOGRAPHIE

(1) FISCHER: Ber. der Deutsch. Chem Ges., 26, 2400.
(2) DENIGÈS: Journ. Pharm. (5), 27, 413.
(3) RITHAUSEN: Journ. Prat. (2), 15, 329.
(4) SCHMOEGER: Centralblatt Agr. Ch., 1885, 130.
(5) LANDWEHR: Ber. der Deutsch. Chem. Ges., 19, 258.
(6) DENIGÈS: Contribution à l'étude des lactoses, Thèse de Pharmacien supérieur, Paris, 1892.
(7) POLONOWSKI et LESPAGNOL: Eléments de Chimie organique biologique, p. 80.
(8) LOMAIRE: Z. physiol. Chem., 1895, 21, 442.
(9) BOUCHARDAT: Compt. rend. de l'Acad. des Sciences, 73, 642; Ann. Chim. (4), 27, 68.
(10) PICTET et VOGEL: Helv. Chem. Acta, 1928, 11, 209.
(11) TOLLENS: Ber. Deutsch. Chem. Ges., 21, 1566.
(12) UHRECH: Ber. Deutsch. Chem. Ges., 15, 2130.
(13) BOUCHARDAT: Bull. Soc. Chim., 1871, 16, 26.
(14) IPATIEFF: Ber. Deutsch. Chem. Ges., 1912, 45, 3218.
(15) HAWORTH et LEITCH: J. Chem. Soc., London, 1918, 113, 188.
(16) NENCKI et SIEBER, J. Prakt. Chem., 1881, 24, 498.
(17) HOPE-SEYLER: Ber. Deutsch. Chem. Ges., 1871, 4, 347.
(18) KILIANI: Ber. Deutsch. Chem. Ges., 1883, 16, 2625; 1908, 41, 158, 2650.
(19) KILIANI et EISENLOHR: Ber. Deutsch. Chem. Ges., 1909, 42, 2603.
(20) E. FISCHER et MEYER: Ber. Deutsch. Chem. Ges., 1889, 22, 361.
(21) PAUCHARD: Thèse de Doct. en Pharm., Paris, 1927.
(22) LIEBIG: Liebigs Ann., 1860, 113, 1.
(23) DUBRUNFANT: Compt. rend. de l'Acad. des Sciences, 1856, 42, 228.
(24) KENT et TOLLENS: Liebigs Ann., 1885, 227, 221.
(25) E. FISCHER: Ber. Deutsch. Chem. Ges., 1908, 41, 73.

(26) VAN EKENSTEIN et LOBRY DE BRUYN: Rec. Trav. Chim. P. B., 1896, 15, 225.
(27) HYDE: Ber. Deutsch. Chem. Ges., 1899, 32, 1810.
(28) FISCHER: Ber. Deutsch. Chem. Ges., 23, 930.
(29) P. LOUIS: Contribution à l'étude des altérations bactériologiques et cryptogamiques du lait. Thèse de Doctorat en Pharmacie, Strasbourg, 1939.
(30) A. BOUCHARDAT: Journ. Pharm., 8, 613.
(31) PASTEUR: Compt. rend. de l'Acad. des Sciences, 42, 347.
(32) FUDAROWSKI: Ber. Deutsch. Chem. Ges., 8, 599; 9, 42 et 1602; 11, 1069.
(33) G. BOUCHARDAT: Ann. Chimie et de Physique (4), 1871, 27 et 68.
(34) WILHELMY-POGG: Ann., 1850, 81, 413 et 499.
(35) JONES et MAC LEWIS: J. Chem. Soc., London, 1920, 117, 1120.
(36) MORAN et MAC LEWIS: J. Chem. Soc., London, 1922, 121, 1613.
(37) COLIN et CHAUDUN: Compt. rend., 1924, 179, 1607.
(38) COLIN et CHAUDUN: Compt. rend., 1926, 182, 775.
(39) OSTWALD: J. Prakt. Chem., 1884, 29, 385; 1886, 31, 312.
(40) COHEN: Z. physik. Chem., 1897, 23, 412.
(41) DUBOUX et MERMOND, Helv. Chim. Acta, 1928, 11, 583.
(42) COLIN et CHAUDUN, Compt. rend., 1928, 188, 1921.
(43) KAUTZ et ROBINSON: J. Ann. Chem. Soc., 1928, 50, 1022.
(44) COLIN et CHAUDUN: Compt. rend., 1931, 192, 1229.
(45) VON SIGMOND: Z. physik. Chem., 1898, 27, 386.
(46) ARMSTRONG et CALDWELL: Proc. roy. Soc., London, 1904, 73, 526.
(47) OST: Ber. Deutsch. Chem. Ges., 23, 3003.
(48) HILDT: Ann. de Falsifications, T. XIII, 1920.
(49) DENIGÈS: Précis de Chimie analytique, 1931, p. 384.
(50) PRINSEN-GEERLIGS: Z. Ver., 1894, 297.
(51) SPERANSKI: J. Russe, 23, 147.
(52) VILLIERS: page 765.
(53) MAQUENNE: Les sucres et leurs principaux dérivés, page 283.

Traités Consultés

G. BERTRAND et P. THOMAS: Guide pour les manipulations de Chimie Biologique. Dunod, Paris, 1919.

P. THOMAS: Manuel de Biochimie. Masson, Paris, 1936.

POLONOWSKI et LESPAGNOL: Eléments de Chimie Organique Biologique. Masson, Paris, 1934.

G. DENIGÈS, L. CHELLE et A. LABAT: Précis de Chimie Analytique. Maloine, Paris, 1930.

L. MAQUENNE: Les sucres et leurs principaux dérivés. Gauthier-Villars, Paris, 1900.

M. CRAMER: Les sucres et leurs dérivés. Doin, Pars, 1927.

A. VILLIERS et E. COLIN: Traité des altérations et falsifications des substances alimentaires Doin, Paris, 1900.

V. GRIGNARD, G. DUPONT et R. LOCQUIN. Traité de Chimie Organique, T. VIII, Fasc. I. Masson, Paris, 1938.

Vu, Strasbourg, le 21 juin 1939.

Le Président du Jury:

P. CORDIER.

Le Doyen de la Faculté de Pharmacie:

Vu et approuvé:

Strasbourg le 23 juin 1939.

A. SARTORY.

Vu et permis d'imprimer,

Strasbourg, le 30 juin 1939.

Le Recteur de l'Académie,

Président du Conseil de l'Université:

TERRACHER.

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION 17

PREMIERE PARTIE 20

Rappel des données essentielles concernant le lactose et plus particulièrement son hydrolyse 20

DEUXIEME PARTIE 32

Etude de l'hydrolyse du lactose 32

Méthode de dosage employée 32

Essais préliminaires concernant l'action des acides sur le lactose et ses produits d'hydrolyse: glucose et galactose 35

Considérations sur les pouvoirs réducteurs du lactose et du galactose comparés à celui du glucose.. 39

Etude comparative de l'hydrolyse du lactose par différents catalyseurs 44

Hydrolyse du lactose effectuée par l'acide chlorhydrique à la concentration de 2 % 44

Hydrolyse du lactose effectuée par l'acide sulfurique à la concentration de 2 % 49

Hydrolyse du lactose effectuée par l'acide phénolsulfonique 51

Hydrolyse du lactose effectuée par l'acide benzènesulfonique 53

Hydrolyse du lactose effectuée par l'acide benzènesulfonique 53

Hydrolyse du lactose effectuée par les acides organiques 56

TROISIEME PARTIE 58

Hydrolyse du lactose en présence du glucose.. .. 58

Dosage du lactose et du glucose dans une même solution.. 59

Application de notre étude analytique au dosage du lactose en présence du glucose 61

CONCLUSION 67

BIBLIOGRAPHIE 71

TRAITES CONSULTES 73